

# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ  
ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO  
PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY  
INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

STANOVENÍ VYBRANÝCH XENOBIOTIK V BIOINDIKÁTORECH  
ROSTLINNÉHO PŮVODU

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE  
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE  
AUTHOR

ELIŠKA ČECHOVÁ

BRNO 2008



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ  
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ  
ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY  
ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY  
INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF  
ENVIRONMENTAL PROTECTION

# STANOVENÍ VYBRANÝCH XENOBIOTIK V BIOINDIKÁTORECH ROSTLINNÉHO PŮVODU

DETERMINATION OF SELECTED XENOBIOTICS IN PLANT BIOINDICATORS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE  
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE  
AUTHOR

ELIŠKA ČECHOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE  
SUPERVISOR

prof. RNDr. MILADA VÁVROVÁ, CSc.

BRNO 2008



Vysoké učení technické v Brně  
**Fakulta chemická**  
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

## Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce

**FCH-BAK0223/2007**

Akademický rok: **2007/2008**

Ústav

Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí

Student(ka)

**Čechová Eliška**

Studijní program

Chemie a chemické technologie (B2801)

Studijní obor

Chemie a technologie ochrany životního prostředí (2805R002)

Vedoucí bakalářské práce

**prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.**

Konzultanti bakalářské práce

### Název bakalářské práce:

Stanovení vybraných xenobiotik v bioindikátorech rostlinného původu

### Zadání bakalářské práce:

1. Zpracování literární rešerše na zadané téma
2. Na základě zhodnocení výsledků bude proveden výběr vhodných xenobiotik, které budou izolovány z jehličí, mechu a lišejníků
3. Bude posouzena vhodnost těchto bioindikátorů pro monitorizační studie

### Termín odevzdání bakalářské práce: 30.5.2008

Bakalářská práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

---

Eliška Čechová  
student(ka)

---

prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.  
Vedoucí práce

---

Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.12.2007

---

doc. Ing. Jaromír Havlica, CSc.  
Děkan fakulty

## **ABSTRAKT**

Monitoring životního prostředí je základním aspektem hodnocení stavu životního prostředí. Provádí se analýzy vody, vzduchu, půdy a bioindikátorů. Tato práce se zaměřuje na vybrané bioindikátory rostlinného původu, jehličí borovice a smrku, a na stanovení zvolených xenobiotik, polybromovaných difenyletherů (PBDE), v nich. PBDE se používají jako retardéry hoření a díky svým vlastnostem a schopnosti bioakumulace se vyskytují ve všech složkách životního prostředí. V práci je popsána separace látek z matrice použitím různých extrakčních technik a finální analýza plynovou chromatografií. Experimentální část je zaměřena na úpravu vzorků, stanovení vybraných kongenerů PBDE a porovnání účinnosti použitých extrakčních metod.

## **ABSTRACT**

Monitoring of environment is basic aspect of detection of environment state. It is practice by analysis of water, air, soil and bioindicators. This thesis is aimed at elected bioindicators of plant origin, needles of pine-tree and spruce, and at determination of chosen xenobiotic, polybrominated diphenyl ethers (PBDE) in this bioindicators. PBDE are used as flame retardants and they are occurred in all components of environment, thanks to their properties and ability of bioaccumulation. In thesis is described separation of substances from sample using different extraction techniques and final gas chromatography. Experimental part is aimed at sample preparation, determination of chosen congeners PBDE and comparison of effectivity of used extraction techniques.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Bioindikátory, polybromované difenylethery, extrakce, separační metody.

## **KEYWORDS**

Bioindicators, polybrominated diphenyl ethers, extraction, separations methods

ČECHOVÁ, E. *Stanovení vybraných xenobiotik v bioindikátorech rostlinného původu*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2008. XY s. Vedoucí bakalářské práce prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....  
podpis studenta

Poděkování:  
Děkuji paní Prof. RNDr. Miladě  
Vávrové, CSc., panu Ing. Martinu  
Hrochovi a paní Ing. Ludmile Mravcové,  
za cenné rady o odborné vedení, které mi  
poskytli v průběhu práce.

## OBSAH

ABSTRAKT .....	3
ABSTRACT .....	3
KLÍČOVÁ SLOVA.....	3
KEYWORDS .....	3
OBSAH.....	5
1. ÚVOD .....	7
2. BIOINDIKÁTORY .....	8
2.1 Charakteristika bioindikátorů .....	8
2.2 Výběr bioindikátorů a analytické metody .....	8
2.2.1 Smrk ztepilý ( <i>Picea abies</i> ).....	8
2.2.2 Borovice lesní ( <i>Pinus sylvestris</i> ) .....	8
3. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY .....	9
3.1 Bromované retardéry hoření .....	9
3.2 Struktura a názvosloví .....	9
3.3 Fyzikálně-chemické vlastnosti PBDE .....	10
3.4 Zdroje vstupu a osud PBDE v životním prostředí .....	13
3.4.1 Primární zdroje vstupu .....	13
3.4.2 Sekundární zdroje vstupu .....	13
3.4.3 Výskyt PBDE.....	13
3.5 Průmyslové použití PBDE.....	15
3.5.1 DekabDE .....	15
3.5.2 OktaBDE .....	15
3.5.3 PentaBDE .....	16
3.6 Nakládání s odpadem obsahujícím PBDE.....	16
3.7 Toxikologické účinky .....	19
3.7.1 Toxicita pentaBDE .....	19
3.7.2 Toxicita oktaBDE.....	19
3.7.3 Toxicita DekabDE .....	19
3.8 Metody analytického stanovení .....	20
3.8.1 Obvyklý postup analýzy .....	20
3.8.2 Izolace analytů-extrakce .....	20
3.8.3 Čištění vzorku .....	22
3.8.4 Separace chromatografií.....	23
3.8.5 Hmotnostní spektrometrie (MS) .....	24
4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	26
4.1 Použité přístroje, zařízení a software .....	26
4.1.1 Zařízení pro přípravu a extrakci vzorků.....	26
4.1.2 Zařízení pro plynovou chromatografii.....	26
4.1.3 Software pro zpracování dat a prezentaci výsledků.....	26
4.2 Chemikálie, spotřební materiál a stadardy .....	26
4.2.1 Rozpouštědla .....	26
4.2.2 Ostatní chemikálie a materiály .....	26
4.2.3 Použité standardy .....	26
4.3 Pracovní postupy .....	27
4.3.1 Sledované kongenery .....	27
4.3.2 Princip stanovení.....	27
4.3.3 Vzorkování .....	27
4.3.4 Úprava vzorků .....	29

4.3.5. Identifikace a kvantifikace stanovovaných analytů.....	29
4.3.6 Podmínky měření .....	29
5.VÝSLEDKY A DISKUZE .....	31
5.1 Zastoupení jednotlivých kongenerů ve vzorcích .....	31
5.2 Účinnost separace sledovaných analytů .....	32
5.3 Výskyt sledovaných kongenerů PBDE ve vybraných lokalitách .....	33
5.3.1 Lázně Toušeň .....	33
5.3.2 Kubova Huť .....	34
5.3.3 Prostějov .....	35
5.3.4 Česká Třebová .....	36
5.3.5 Čížová .....	38
5.3.6 Brno .....	39
5.3.7 Dvůr Králové nad Labem .....	41
5.3.8 Osíčany-Koválovice .....	42
5.3.9 Lelekovice .....	43
5.3.10 Mělník.....	44
5.4 Vyhodnocení nejvíce kontaminované oblasti.....	45
6.ZÁVĚR .....	46
7. POUŽITÁ LITERATURA .....	47
8. SEZNAM SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	49

## 1. ÚVOD

Ochrana a tvorba životního prostředí člověka patří v České republice v současné době k vážným celospolečenským úkolům.

Negativním působením civilizačních faktorů, především imisí, velice vážně poškozuje přírodu a tím i zdraví člověka. Vliv imisí se dnes projevuje na více než 50% plochy naší republiky.

Aby bylo možno proti negativním vlivům poškozujících životní prostředí člověka bojovat, je nutno odpovědně posoudit skutečný stav poškození.

Monitorovací metody mohou být různé, jako je například hodnocení zdravotního stavu lesa, vyšších a nižších organismů z rostlinné i živočišné říše, kdy se zjišťuje poškození životního prostředí vlivem biotických i abiotických činitelů.

Stále častěji se dnes provádějí listové a půdní analýzy, kdy se sledují biogenní, ale především zátěžové prvky v listech, jehličí a v půdě. Z výsledků analýz se pak odvozuje celková zátěž životního prostředí.

Cílem této bakalářské práce je posouzení stavu životního prostředí změřením zátěže imisí polybromovaných difenyl etherů v jehličí smrku a borovice.



## 2. BIOINDIKÁTORY

### 2.1 Charakteristika bioindikátorů

Bioindikátor je organismus nebo chemikálie, užívaná ke sledování čistoty životního prostředí nebo ekosystému. Jako bioindikátor označujeme všechny organismy, jejichž činnost, populace nebo stav může být použita k posouzení stavu životního prostředí. [3]

K nejběžnějším fytoindikátorům (rostlinné bioindikátory) patří stromová zeleň, ale i nižší rostliny, jako jsou mechy, lišejníky, rašeliníky, řada dalších stanovištních rostlin a houby.

### 2.2 Výběr bioindikátorů a analytické metody

Výběr vhodného indikátoru i volba kontrolních metod závisí na druhu zátěže dané lokality, na zdroji znečištění a na možnostech posuzovatele. K hlavním zdrojům znečištění životního prostředí patří: průmyslové exhaláty, průmyslové odpadní vody a odpadní vody z domácností, výfukové plyny motorových vozidel, nadměrné solení cest v zimním období, neúměrné solení cest v zimním období a používání neúměrného množství umělých hnojiv a pesticidů v zemědělství a jině.

Ze všech výše jmenovaných fytoindikátorů jsou to zejména jehličnaté a listnaté dřeviny, u nichž se sleduje míra poškozené listové zeleně a ostatních orgánů. Největší vypovídací schopnost při použití metody listových analýz mají jehličnaté dřeviny, mimo modřínu, neboť na rozdíl od listnáčů jehličí každoročně neopadává a je možno míru zátěže sledovat různými metodami, jako je zabarvení asimilačních orgánů, náhlé změny zbarvení, nadměrný opad jehličí, řídnutí koruny, odumírání části nebo celých stromů, ale zejména již zmíněné metody listových analýz.

#### 2.2.1 Smrk ztepilý (*Picea abies*)

Smrk ztepilý je naše domácí nejrozšířenější dřevina rostoucí na 54,3% porostní plochy. Je dřevinou s rozsáhlým areálem rozšíření, zabírající souvisle celou severní a severovýchodní Evropu na jihu zasahující až na Balkánský poloostrov. V horách vytváří souvislé přirozené porosty. Výškové optimum výskytu je obvykle od 800 do 1000 m n.m. U smrku lze vyčlenit tři základní ekotypy (klimatypy) – vysokohorský, horský a chlumní. Smrk je rostlina polostinná, v horách však nárok na světlo stupňuje. Je značně náročný na srážky a vzdušnou vlhkost, na půdu a geologický podklad nemá zvláštní nároky. Je velmi citlivý na působení imisí a zvláště v horských oblastech a nebo v okolí významných zdrojů znečištění ovzduší dochází k závažným poškozením porostů.

Poškození imisemi se projevuje nekrózami světle růžovofialového zbarvení, které je typické pro tuto dřevinu. [2]

#### 2.2.2 Borovice lesní (*Pinus sylvestris*)

Borovice lesní je jednou z nejrozšířenějších dřevin s areálem výskytu na 1/3 severní polokoule, sahajícím až k 70° s.š. probíhajícím po 68. rovnoběžce. V České republice roste na ploše 17,5%. V rámci republiky jsou vylišeny dva ekotypy (klimatypy) – borovice horská (polostinná dřevina) a borovice chlumní (světlomilná dřevina). Je dřevinou kontinentálního charakteru, netrpící teplotními extrémami. Na sypkých půdách může však být ohrožována holomrazy. V nárocích na půdu je velmi skromná, daří se jí na podkladech pískovcových a vápencových, žulových, rulových i porfyrových. V okolí městských aglomerací trpí kouřovými imisemi. Poškození imisemi se projevuje rezavými nekrózami po celé ploše jehlic. [2]

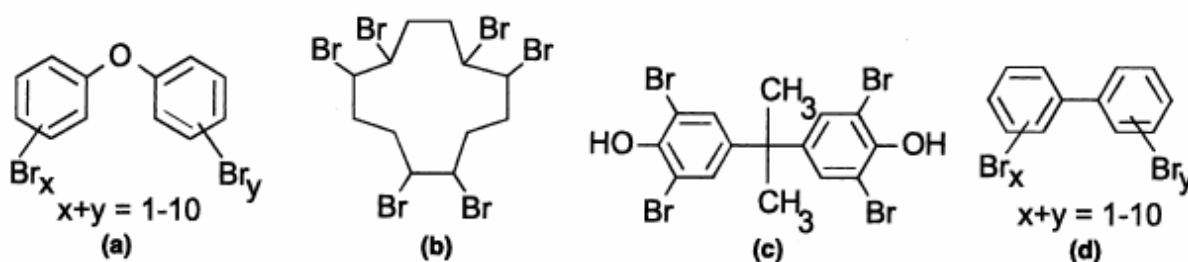
### 3. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

#### 3.1 Bromované retardéry hoření

Bromované retardéry hoření (BFR) jsou látky s velkým průmyslovým využitím a jsou produkovány v ohromných množstvích. V současné době je to až 150000 tun/rok. BFR se dělí na reaktivní a aditivní. Reaktivní BFR jsou kovalentně vázané na polymerní matici, patří mezi ně např. Tetrabrombisfenol. Aditivní BFR jsou s daným polymerem pouze volně smíchány či v něm rozpuštěny, sem patří např. polybromované difenyl ethery (PBDE). Retardéry hoření jsou látky užívané v umělých hmotách, textiliích, elektrických obvodech a dalších materiálech, které zabráňují vzniku požárů. Všechny technické retardéry hoření obsahují bromované organické sloučeniny, což jsou PBDEs, HBCD, TBBPA a PBBs. Struktury těchto jsou ukázány na Obrázku.1. Tyto látky jsou perzistentní, lipofilní a byla prokázána i jejich bioakumulace. Protože se mezi polymery a PBDE nevytváří chemická vazba, dochází k jejich uvolňování a kontaminaci životního prostředí.

Z celkového objemu BFR, činí polybromované difenyl ethery (PBDE) jednu třetinu z celkové produkce těchto látek. Podle očekávání je nacházíme v měřitelných koncentracích jak ve zvířatech, tak v lidech (mateřské mléko a tukové tkáně) dále v sedimentech a biotických maticích. Vzhledem k vysoké produkci a strukturní podobnosti s ostatními dobře známými perzistentními organickými polutanty, jako jsou např. PCB, jsou na místě obavy o životní prostředí a zdraví lidí. [9]

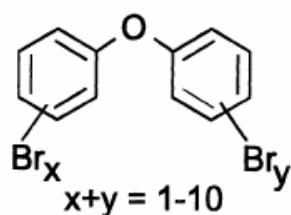
Přítomnost PBDE, vzbudilo za posledních deset let zájem vědců. Enviromentální studie, které vedly nejdříve do Evropy, Japonska a Severní Ameriky, ukázaly, že tyto chemikálie jsou všudypřítomné. Zájem o PBDE se stále zvyšuje, několik výzkumů ukazuje, že jejich množství rapidně vzrůstá. Výskyt vysokých koncentrací známých kongenerů PBDE je pravděpodobně dostatečný k vyvolání nepříznivých efektů u živých organismů. Je také zřejmé nebezpečí, že by tyto látky mohly mít negativní účinky u choulostivých lidí, malých dětí, domorodé populace a u rybích konzumentů. Bohužel, naše vědomosti o těchto chemikáliích, jejich zdrojích, chování v životním prostředí a toxicitě, jsou omezené a navíc jejich výroba je nebezpečná (nicméně v dnešní době nepostradatelná).



Obrázek 1: (a) PBDEs, (b) HBCD, (c) TBBPA, (d) PBBs [4]

#### 3.2 Struktura a názvosloví

PBDE jsou látky aromatického charakteru, struktura viz. Obrázek 2



Obrázek 2: Chemická struktura PBDE

Název je tvořen číslicemi, které určují polohu jednoho či více atomů bromu. Pro odlišení stejných pozic na aromatických jádrech se používá číslování prosté pro pravý kruh a čísla s čárkou pro kruh levý. Za čísla následuje násobící předpona (prefix), která vyjadřuje násobnost stejných substituentů v chemické struktuře (viz. Tabulka 1)

*Tabulka 1: Jednoduché prefixy*

číslo	číselné označení
1	mono-
2	di-
3	tri-
4	tetra-
5	penta-
6	hexa-
7	hepta-
8	okta-
9	nona-
10	deka-

Celkový počet kongenerů 209 je rozdělen mezi deset skupin podle počtu atomů bromu (viz. Tabulka 2). Komerční produkty PBDE zastávají hlavně pentabromované difenyl ethery (pentaBDE), oktabromované difenyl ethery (oktaBDE) a dekabromované difenyl ethery (dekaBDE). Každý produkt se skládá z několika různých kongenerů a finální produkt je nazván podle převažujícího kongeneru vzhledem k typu bromace. PBDE kongenery jsou identifikovány názvoslovím IUPACu, které bylo původně zamýšleno pro označení PCB kongenerů.

*Tabulka 2: Počet kongenerů PBDE*

skupina	počet kongenerů
monoBDE	3
diBDE	12
triBDE	24
tetraBDE	42
pentaBDE	46
hexaBDE	42
heptaBDE	24
oktaBDE	12
nonaBDE	3
dekaBDE	1

### 3.3 Fyzikálně-chemické vlastnosti PBDE

Nejvíce používanými skupinami PBDE a zároveň nejvíce se vyskytujícími v životním prostředí jsou tri- (kongenery 28), tetra- (47), penta- (99,100), hexa- (153,154), hepta-(183) a deka- (209) viz Tabulka 4.

Důsledkem masivního používání PBDE je jejich postupné uvolňování do životního prostředí, které vedlo k postupné kontaminaci prakticky všech složek ekosystému. Stejně jako ostatní organohalogenové sloučeniny (PCB, DDT aj.) i PBDE jsou značně lipofilní látky a mají

relativně nízkou teplotu varu a teplotu tání. Díky nízké teplotě tání se při nadměrném zahřátí rozkládají dříve než polymerní matrice. Ideální je, když se retardant rozkládá při teplotě zhruba o 50°C než je teplota vznícení polymeru. Experimentálně bylo zjištěno, že s rostoucím počtem atomů bromu se teplota varu snižuje a zároveň kongenery, které mají atomy bromu v ortho- poloze mají vyšší teplotu varu než kongenery ostatní. Důležitou veličinou je rozdělovací koeficient oktanol-voda ( $\log K_{ow}$ ) svědčící o výrazné lipofilitě a vysoké schopnosti bioakumulace, podobně jako je tomu u chlorovaných aromatických uhlovodíků. S rostoucím  $\log K_{ow}$  jsou PBDE víc hydrofobní.  $\log K_{ow}$  u těchto látek nabývá hodnot od 5,9 do 10. PBDE jsou persistentní organické látky s nízkou rozpustností ve vodě, proto se větší koncentrace nacházejí v sedimentech než-li ve vodě samotné. Mají vysokou odolnost vůči kyselinám a zásadám, teplu, světlu a redoxním reakcím. Tyto vlastnosti představují riziko, pokud látky vstoupí do životního prostředí, kde mohou díky svým vlastnostem setrvávat velmi dlouhou dobu.[1,5,7]

*Tabulka 3: Fyzikálně-chemické vlastnosti vybraných kongenerů PBDE*

Kongener	CAS index	$M_r$ (g/mol)	Log $K_{ow}$	Bod tání (°C)	Rozpustnost ve vodě (mg/ml, 25°C)
28	41 318-75-6	406,9	5,89	64-64,5	0,07
47	5436-43-1	485,8	6,55	83,5-84,5	0,015
99	60 348-60-9	564,7	7,13	90,5-94,5	0,0094
100	189 084-64-8	564,7	6,86	102	0,04
153	686 631-49-2	643,6	7,62	160-163	$8,7 \times 10^{-7}$
154	207 122-15-4	643,6	7,39	131-132,5	$8,7 \times 10^{-8}$
183	207122-16-5	722,5	7,14	171-173	$1,5 \times 10^{-6}$
209	1163-19-5	959,2	9,97	302,5	$4,17 \times 10^{-9}$

Při nadměrném zahřívání a spalování PBDE mohou z těchto látek vznikat velmi toxické látky, jako jsou dibenzo-p-dixiny (PBDD) a dibenzofurany (PBDF)

Tabulka 4: Struktura nejvýznamnějších kongenerů PBDE

Kongener	Chemický název	Strukturní vzorec
28	2,4,4'-tribrom difenyl ether	
47	2,2',4,4'-tetrabrom difenyl ether	
99	2,2',4,4',5-pentabrom difenyl ether	
100	2,2',4,4',6-pentabrom difenyl ether	
153	2,2',4,4',5,5'-hexabrom difenyl ether	
154	2,2',4,4',5,6'-hexabrom difenyl ether	
183	2,2',3,4,4',5',6-heptabrom difenyl ether	
209	2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-dekabrom difenyl ether	

### 3.4 Zdroje vstupu a osud PBDE v životním prostředí

Zejména výšebromované difenyl ethery, které jsou relativně málo chemicky reaktivní, vysoce hydrofobní, a tím i velmi perzistentní, mohou být bioakumulovány v tukových tkáních živých organismů. Působení PBDE nejsou vystaveni pouze zástupci živočišné říše, ale i lidé, kteří se zabývají výrobou či zpracováním těchto sloučenin. Tyto látky mohou do lidského organismu vstupovat jak dermální cestou, tak i inhalací PBDE vázaných na částice prachu ve vzduchu. Významnou cestou expozice může být např. i konzumace ryb z kontaminovaných vod a jejich možných predátorů (např. vodní ptáci) [5]

#### 3.4.1 Primární zdroje vstupu

Izolace, kabely, papírové lamináty, koberce, stany, imitace dřeva, elektronika a elektronické součástky, detektory kouře, kancelářské přístroje, počítače a televizory, autodílny, světla, pojistky, vypínače, nátěrové hmoty

#### 3.4.2 Sekundární zdroje vstupu

Revolatilizace ze sedimentů a půd, odpařování z aplikovaných nátěrů a z řady výše uvedených zdrojů

#### 3.4.3 Výskyt PBDE

PBDE se jako kontaminanty objevují všude v přírodě a z větší části v rybách, mají demonstrovat globální znečišťování, se kterým se setkáváme v tuku mořských živočichů soustředěných zejména v Arktickém oceánu.

Mnoho perzistentních organických polutantů se stále vyrábí a používá jako přísady do produktů určených pro průmysl, zemědělství či spotřebitelský trh. PBDE pronikají následkem rozsáhlého využívání stále více do životního prostředí. Byly nalezeny na místech a ve zvířatech vzdálených od zdrojů znečištění tisíce kilometrů. Kupříkladu byly nalezeny v tělech polárních medvědů, sokolů, vorvaňů, lidí, dále v sedimentech, říčních vodách, zkrátka byly nalezeny ve všech složkách životního prostředí. Poslední výzkumy naznačují, že nebezpečné chemikálie mohou unikat ze spotřebního zboží během jeho běžného užívání, buď přímo do vzduchu nebo ve formě kontaminovaného prachu. Nepodléhají snadno rozkladu či biodegradaci, naopak se v prostředí kumulují. [10]

##### 3.4.3.1 Nejvýznamnější abiotické matrice

###### *Vzduch*

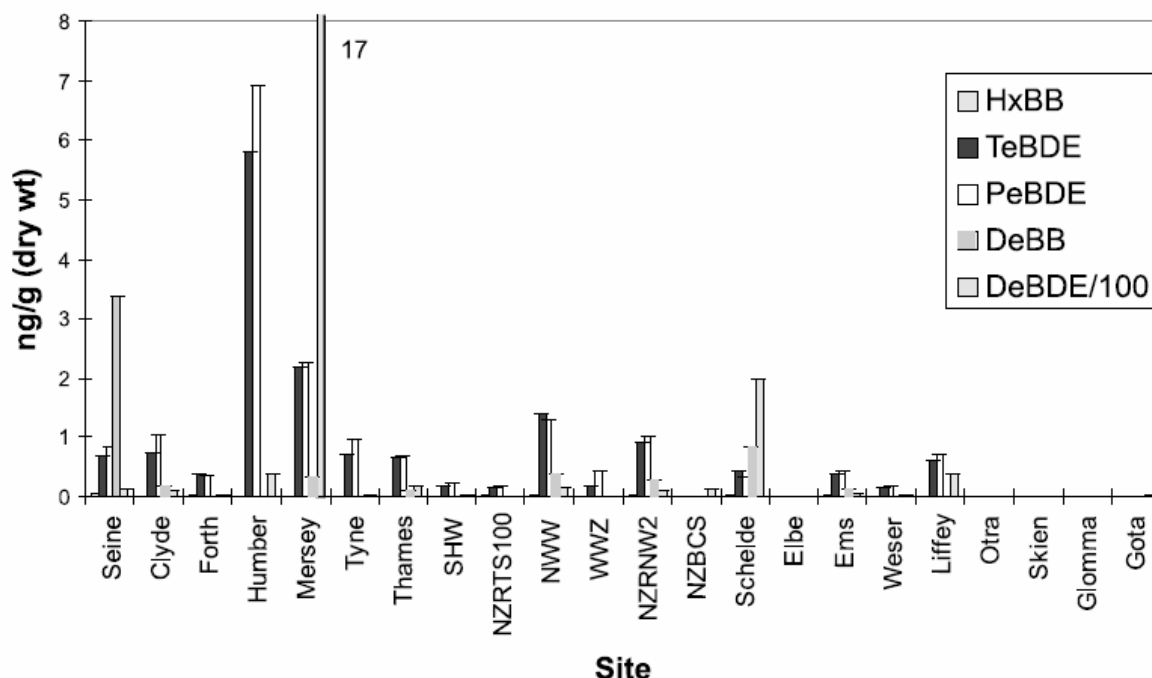
V roce 1979 byly PBDE identifikovány ve vzduchu v sousedství s továrnou, kde se vyráběly. Výroba těchto látek se týká hlavně Japonska, kde byly ve vzduchu nalezeny nejvyšší koncentrace. V ovzduší byly nalezeny kombinace triBDE, tetraBDE, pentaBDE a hexaBDE, vyšší kongenery nalezeny nebyly, protože detekční limity těchto kongenerů jsou daleko nižší díky fotolytické degradaci. Přehled zemí, koncentrací a nalezených kongenerů je uveden v Tabulce 5. [1]

*Tabulka 5: Naměřené koncentrace PBDE ve vybraných zemích*

<b>Země</b>	<b>naměřené koncentrace pg/m<sup>3</sup></b>	<b>nalezené kongenery</b>
Thaiwan	23 - 53	28, 47, 99, 100, 153, 154
Japonsko	7,1 - 21	28, 47, 99, 100, 153, 155
Anglie	7 - 69	47, 99, 100, 153, 154
USA	6,9 - 77	47, 99, 100
Švédsko	1 - 8	47, 99, 100
Kanada	1 - 4	47, 99, 100

### Sedimenty

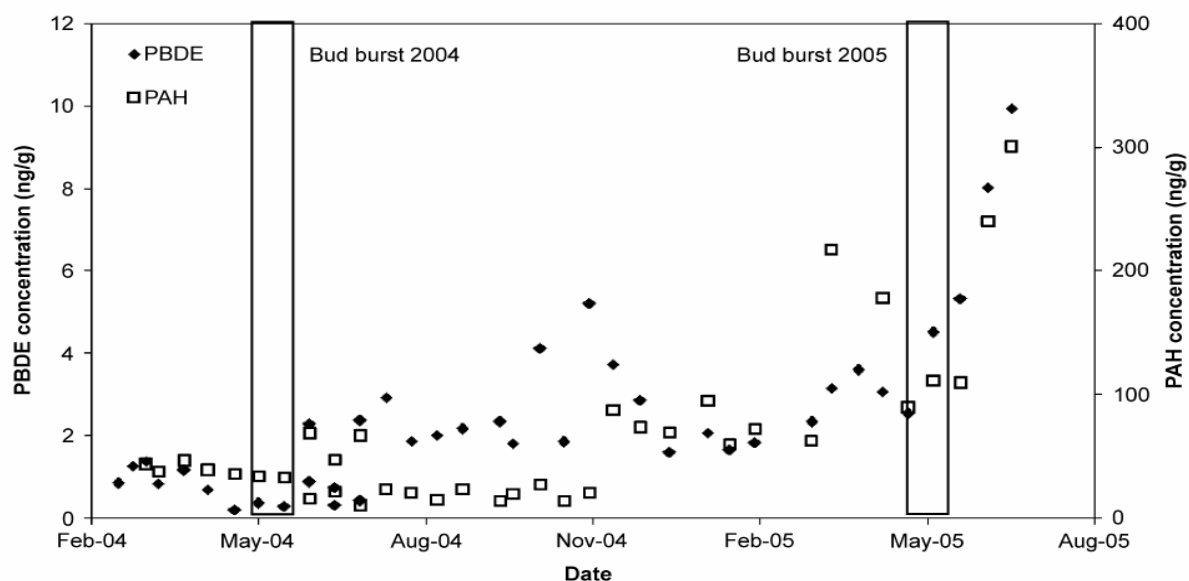
Analýza a sledování PBDE v říčních sedimentech se provádí od roku 1988. Tyto rozборы byly zaměřeny především na kongenery 47, 99, 100 a především BDE 209. Příklad naměřených koncentrací v Baltském moři se u nižších kongenerů pohybují od 21 do 59 ng/g a u kongeneru BDE 209 je to 25 až 11600 ng/g. [1] Graf 1 ukazuje koncentrace jednotlivých kongenerů PBDE v různých lokalitách.



Graf 1: Koncentrace PBDE v sedimentech ve vybraných lokalitách

### Jehličí

V jehličí se PBDE začínají kumulovat od prasknutí pupenů, postupné vzrůstání koncentrace během února až června ukazuje Graf 2. Celková koncentrace PBDE se v kontaminovaném prostředí pohybuje od 210 do 9940 pg/g. Kongenery, které převládaly v jehličí: BDE-209, BDE-99 a BDE-47. [11]



Graf 2: Nárůst koncentrace PBDE v jehličí v průběhu února až června

### 3.4.3.2 Biotické matrice

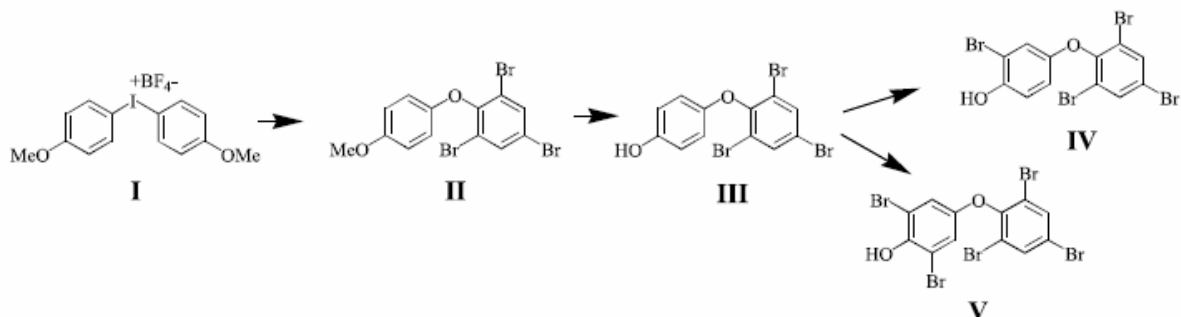
Přítomnost kongenerů PBDE byla zjištěna:

*V lidských vzorcích* : (mateřské mléko, krev, tkáně citlivých orgánů – játra, ledviny, štítná žláza, slinivka). Z matky na potomka se PBDE dostávají mateřským mlékem a pupečnickovou krví.

*V terestrickém systému*: ptáci, savci

*Ve sladkovodní ekosystému*: ryby, ptáci

*V mořském ekosystému*: ryby a organismy, kterými se tyto ryby živí, mořští ptáci a savci



Obrázek 3: Enzymatické odbourávání PBDE v játrech [1]

Byl prováděn výzkum metabolismu a osudu PBDE v životním prostředí ve srovnání s chlorovanými aromatickými kontaminanty. U zvířat je metabolická cesta PBDE daleká. Zahrnuje debromaci, hydroxylaci a štěpení organické vazby (viz. Obrázek 3). Naopak v přírodním prostředí dochází k aerobní a anaerobní mikrobiální degradaci.

Přestože BDE 209 je na prvním místě celosvětové spotřeby, –tetra až hexa BDE jsou v biotických matricích nacházeny daleko častěji. BDE 209 jako takový je biopoužitelný, ale ukázalo se, že u tohoto kongeneru dochází k fotolytickému štěpení vlivem UV a slunečního záření. [6]

### 3.5 Průmyslové použití PBDE

Rozvoj jejich produkce nastal v 70. letech minulého století. V dnešní době jsou nepostradatelnou součástí celosvětového průmyslu. Běžně se začali používat a dodnes se používají jako aditiva při výrobě řady produktů. Můžeme se s nimi setkat v různých plastových součástkách elektronických zařízeních, autech, stavebních materiálech a textiliích. Jak už bylo řečeno v bodě 3.2 komerční produkty zastávají především pentaBDE, oktaBDE a dekaBDE. Přičemž dekaBDE (kongener 209) je nejrozšířenějším produktem PBDE na trhu a tvoří více jak 80% celkové produkce PBDE, zatímco pentaBDE a oktaBDE představují pouze okolo 12% a 6% z celkové produkce[5,9].

#### 3.5.1 DekabDE

S dekaBDE se můžeme setkat v takzvaných „high-impact“ technologiích. Přidávají se do součástek elektrických obvodů v televizorech a počítačích. Vyskytují se ve vysoce odolných polystyrenech, používají se na výrobu krytů televizorů, ABS-systémů, termoplastů, PVC a některých textiliích. Dále slouží jako tlumiče nárazů. [12]

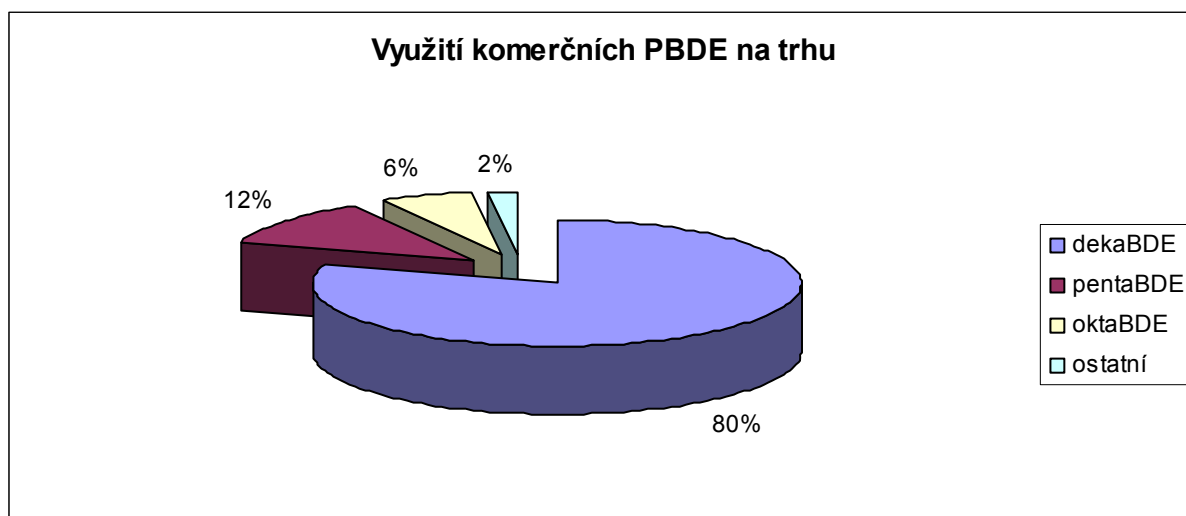
#### 3.5.2 OktaBDE

Z oktaBDE se vyrábějí kryty a obaly počítačů a notebooků, televizorů a elektronických her, domácích spotřebičů. [12]



### 3.5.3 PentaBDE

Přidávají se do polyuretanových pěň, používají se v domácích spotřebičích textiliích (ložní prádlo).[12]



Graf 3: Využití komerčních PBDE na trhu

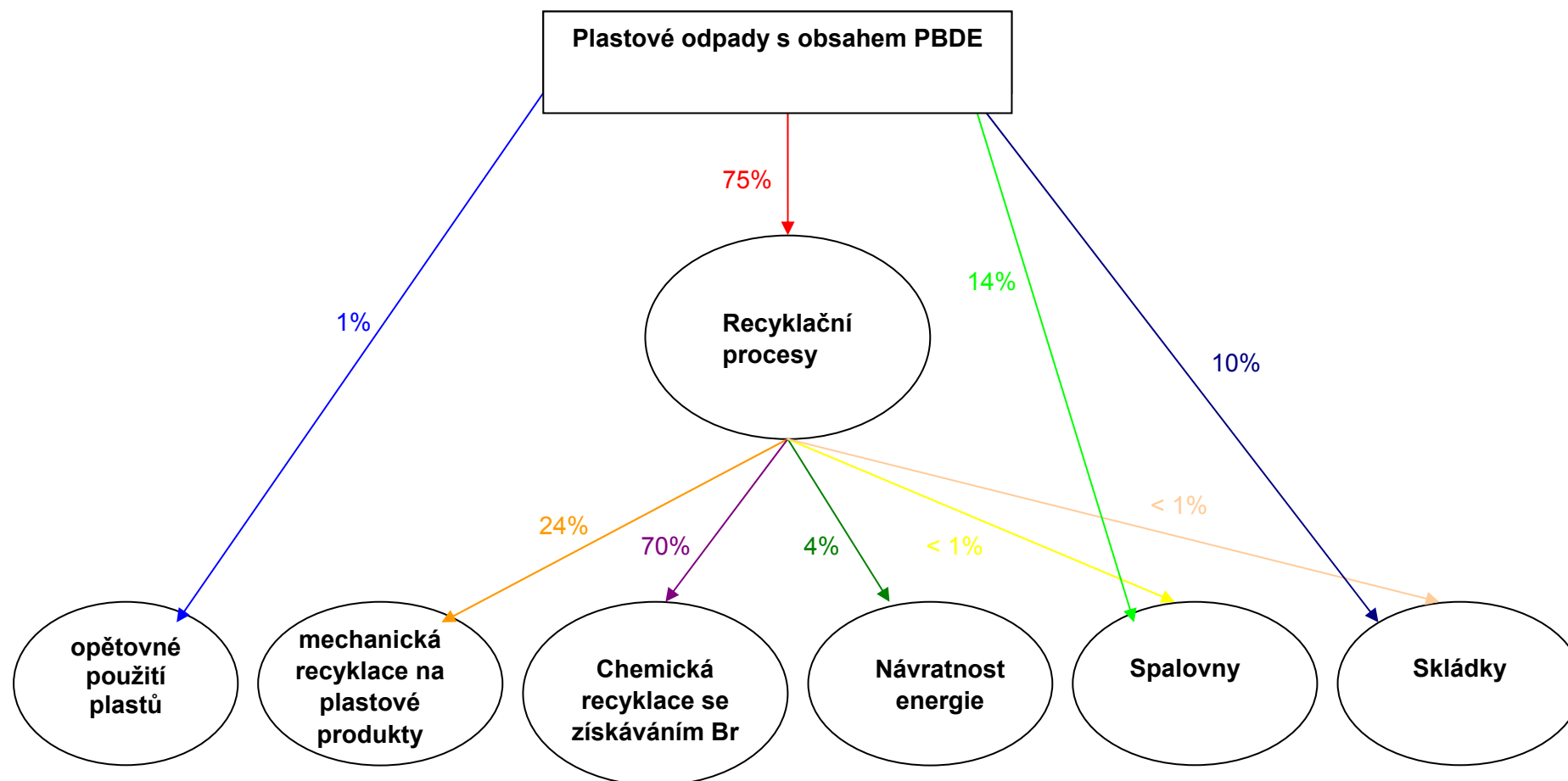
### 3.6 Nakládání s odpadem obsahujícím PBDE

Zajímavě a velmi nadějně se po roce 2004 začala vyvíjet situace v nakládání s plastovými a polymerními odpady obsahující PBDE. Některé země již před tímto rokem (například Japonsko-2003) přijaly mnoho předpisů a norem, které se zabývaly problémy s tímto druhem odpadu a které vedly k výraznému zlepšení situace.

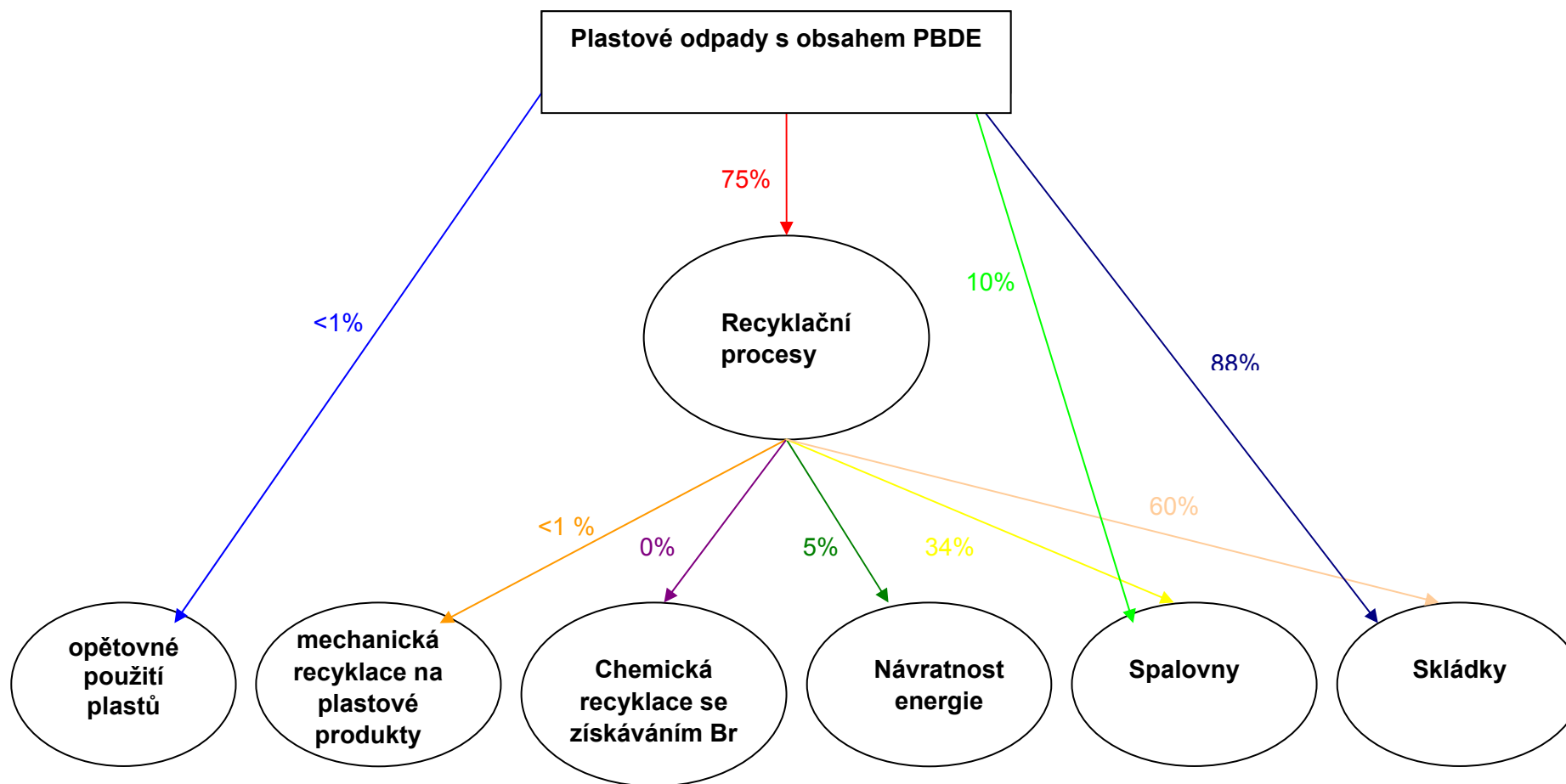
Hlavními způsoby zneškodnění těchto odpadů do roku 2004 byly podle serveru [www.bsef.com](http://www.bsef.com) (Bromine Science and Environmental Forum) skládkování a spalování, které se na likvidaci podílely 88% resp. 10% z celkového objemu odpadu. Ke zmíněným procentům, které putovaly na skládky a do spaloven, bylo nutno připočítat podíly, které vznikaly při recyklačních procesech. Přibližně 2% původního objemu odpadu byly určeny k recyklaci, přičemž z toho na skládkách skončilo 60% a ve spalovnách dalších 34%. Tuto situaci vystihuje Obrázek 5, na kterém je názorně shrnuta uvedená situace.

Po přelomovém roce 2004 se zefektivnily recyklační technologie a likvidace plastových odpadů s přítomností PBDE se začaly ubírat především touto cestou. Zásadně se tedy změnilo množství odpadu určeného k recyklaci, a to z původních 2% (před rokem 2004) na 75%. Znamená to také, že naopak objemy pro skládky a spalovny doznaly výrazného snížení viz. Obrázek 4. Důležitou hodnotou na obou schématech je množství odpadu podléhající chemické recyklaci se získáním bromu. Zatímco do roku 2004 byla nulová, po roce 2004 tvoří 70% z celkového objemu odpadu určeného k recyklaci.[13,14]

Obrázek 4: Zacházení s plastovými odpady obsahujícími PBDE po roce 2004



Obrázek 5: Zacházení s plastovými odpady obsahujícími PBDE před rokem 2004



### 3.7 Toxikologické účinky

Závažným problémem používání komerčních směsí PBDE, jako také s mnoha dalšími organohalogenovými sloučeninami, je poměrně nízká čistota směsí a nedostatek znalostí o možných interferencích sloučenin v přírodě. Jiným problémem je možnost transformace PBDE během spalování na jiné produkty, které mohou být toxické stejně jako původní produkty.[9] Vodní toxicita a potenciál kumulovat se zvyšuje s rostoucím stupněm bromace.

#### 3.7.1 Toxicita pentaBDE

Byly prováděny laboratorní testy na krysách a drobných hlodavcích. PentaBDE vykazovaly nízkou akutní toxicitu u experimentálních zvířat. Klinické příznaky se vyznačovaly průjemem, husí kůží, snížením aktivity, nestabilitou předních končetin, zarudnutím pokožky kolem očí a nosu, přežvykáním „na prázdko“. Dávka LD<sub>50</sub> (pro myši a krysy) byla stanovena v rozmezí 0,5-5 g/kg. Opakovaným podáváním pentaBDE byla pozorována změna histologie jater a štítné žlázy, dále se snižovala funkce sleziny a brzlíku. S vyššími dávkami se zvyšovala mateřská a plodová toxicita, která se projevila zejména na kontaminovaném mateřském mléce a nižší hmotností plodu mláďat. S poruchami vylučování hormonů je spojeno i narušení funkce mozku. PentaBDE jsou tedy neurotoxické. Neurotoxicita u těchto látek se projevuje tak, že jedinec ztrácí schopnost učit se a některé vrozené reflexy, je narušeno paměťové centrum. [9]

#### 3.7.2 Toxicita oktaBDE

Stejně jako u pentaBDE je akutní toxicita u oktaBDE nízká. Dávka LD<sub>50</sub> byla experimentálně stanovena v rozmezí 2-28 g/kg (u králíků). Klinické příznaky byly sledovány jako podráždění očí a pokožky. Nebyla pozorována genotoxicita, ale mutagenita ano, což se projevilo nekontrolovanou syntézou DNA (in vitro-*Salmonella*). Testy na subakutní toxicitu byly prováděny na krysách po dobu 13-ti týdnů a byla poškozena zejména játra, při dávce 10 mg/kg (docházelo k nekróze). U vyšších dávek se projevilo narušení funkce štítné žlázy, vylučovacího systému (byly zasaženy ledviny). Plodová toxicita byla prokázána snižováním hmotnosti plodu, snižováním hmotnosti plodu a pevností kostí plodu (testy na králících, dávka 2 mg/kg), mateřská potom od 15 mg/kg. [9]

#### 3.7.3 Toxicita dekaBDE

Akutní toxicita produktů dekaBDE je nízká a dávka LD<sub>50</sub> experimentálně zjištěná u hlodavců, byla stanovena mezi 2 a 5 g/kg. Kožní podráždění zjištěno nebylo a oční podráždění se projevilo mírným zarudnutím očí. Testy na mutagenitu a poruchy struktury chromozomů byly také negativní. Účinek při testování na subakutní/subchronickou toxicitu se projevil při dávce od 80 mg/kg a to oslabením štítné žlázy, zvětšením jater, degradací ledvinové tkáně a narušením funkce červených krvinek. Testy na chronickou toxicitu byly prováděny po 103 týdnů na krysách a myších. Nádor byl pozorován po aplikaci dekaBDE ve stravě (čistota látek 94%-99%). Po dávkování 1200 a 2500 mg/kg na den se nádor objevil na játrech a slinivce. Teratogenní účinek byl pozorován při aplikování dávky 100-1000 mg/kg a projevil se (u plodu) podkožním otokem a oslabením kostí. [9]

### 3.8 Metody analytického stanovení

Výskyt PBDE v životním prostředí zvyšuje zájem vědců a přináší nový předmět intenzivního výzkumu. Zatímco analytické metody dostupné pro tri- až okta-BDE kongenery, nacházejí v technických směsích penta- a okta-BDE i nižší kongenery, analýza výšebromovaných kongenerů je výrazně složitější. Už jen to že kongener BDE-209 citlivý na světlo a rozkládající se při 300°C je dostatečným ukazatelem toho, že použití plynové chromatografie bude vyžadovat speciální podmínky, jako je nízký tlak a poměrně nízká teplota. K takovému stanovení se používá plynová chromatografie za nižšího tlaku LP-GC (low-pressure gas chromatography) [15].

Z těchto důvodů se nejčastěji provádí analýza kongenerů: 2,4,4'-triBDE (BDE 28), 2,2',4,4'-tetraBDE (BDE 47), 2,2',4,4',5-pentaBDE (BDE 99) , 2,2',4,4',6-pentaBDE (BDE 100), 2,2',4,4',5,5'-hexaBDE (BDE 153), 2,2',4,4',5,6'-hexaBDE (BDE 154), 2,2',4,4',5,5',6-heptaBDE (BDE 183).[16]

#### 3.8.1 Obvyklý postup analýzy

- vzorkování
- homogenizace vzorku
- odběr analytického vzorku
- navážka a úprava matrice
- izolace analytu: extrakce a čištění extraktu
- instrumentální stanovení

#### 3.8.2 Izolace analytů-extrakce

Před samotným stanovením se provádí izolace analytů ze vzorku a jeho čištění. Většina používaných extrakčních technik jsou podobné jak pro biotické tak abiotické (hlavně sedimenty) matrice. Techniky, které se hojně využívají jsou: ultrazvuková extrakce (sonikace), extrakce kapalina-kapalina a Soxhletova extrakce. Spojuje je poměrně dlouhá doba extrakce a vysoká spotřeba rozpouštědla. Pro tyto klasické extrakční techniky se používají směsi polárních a nepolárních rozpouštědel (dichlormethan/n-pentan, aceton/n-hexan). V posledních letech se objevily nové extrakční techniky: zrychlená extrakce rozpouštědlem (ASE), mikrovlnná extrakce (MAE) a superkritická fluidní extrakce (SFE). Tyto metody jsou dostatečně automatizované, mají poměrně nízkou dobu extrakce a výrazně nižší spotřebu rozpouštědel oproti klasickým metodám. Jejich nevýhodou jsou příliš vysoké pořizovací náklady. [15,16]

##### 3.8.2.1 Soxhletova extrakce

Soxhletova extrakce je jedna z nejpoužívanějších a nejjednodušších extrakčních technik pro systém pevná látka-kapalina, která má i v dnešní době své uplatnění u extrakce biotických a abiotických matric. Vhodné množství vzorku se pohybuje mezi 20-200 g sedimentu nebo 1-100 g biologické tkáně a jako rozpouštědlo se používá většinou směs polárních a semi-polárních rozpouštědel v poměru tvořících azeotropickou směs (aceton/n-hexan, dichlormethan/n-hexan, dichlormethan/n-pentan). Pro kvantitativní převedení sledovaných analytů ze vzorku je potřeba před zahájením extrakce vzorek dostatečně vysušit v sušárně nebo smícháním se síranem sodným. Přesto, že je tato metoda tak hojně používaná má i řadu nevýhod [18]:

- velká spotřeba organických rozpouštědel;
- při používání nepolárních rozpouštědel trvá podstatně delší dobu a není tak účinná jako při použití rozpouštědel polárních;
- používání vysoce purifikovaných rozpouštědel;
- dlouhá doba pro vysušení vzorku;
- získání extraktu, který potřebuje další přečišťovací krok;
- omezená automatizace

### **3.8.2.2 Sonikace a třepání**

Představuje nejjednodušší techniku izolace analytů, při které je vzorek třepán či sonikován pomocí ultrazvuku ve vhodném extrakčním rozpouštědle při laboratorní teplotě. Účinnost extrakce závisí vedle již zmíněné polaritý extrakční směsi především na homogenitě (resp. stupni desintegrace) biologické tkáně a na době třepání (sonikace). Oddělení extrakční směsi od vzorku je provedeno pomocí filtrace a následným promytím rozpouštědlem. Výhodou této techniky jsou nízké pořizovací náklady. Naopak nevýhodou je vyšší spotřeba rozpouštědel a nemožnost automatizace. [19]

### **3.8.2.3 Kolonová extrakce**

Používá se pro vzorky, které obsahují nízké procento analytů, protože dovoluje zpracování až 500 g i více. Vzorek se po smíchání se sytkým síranem sodným naplní do kolony, přidá se rozpouštědlo (dichlormethan, hexan) a nechá se vsáknout do vzorku. Po asi 30 minutách je rozpouštědlo vypuštěno z kolony a postup se opakuje.

### **3.8.2.4 Mikrovlnná extrakce (MAE – Microwave-Assisted Extraction)**

Tato extrakční metoda se používá pro extrakci pevných vzorků. Užitá rozpouštědla jsou jak polární tak nepolární. Použití mikrovlnné energie je výhodný způsob ohřevu, při níž je tato energie absorbována polárními látkami. Patří mezi rychlé extrakční metody, protože v průběhu extrakce nedochází k zahřívání extrakční patrony, ve které je umístěn vzorek s rozpouštědlem, ale dojde pouze k zahřátí použitého rozpouštědla na bod varu a tím se zkracuje extrakční čas.

Mikrovlnná extrakce se provádí dvěma způsoby:

- tzv. *pressurized MAE* (PMAE) – použití uzavřené nádoby za kontrolovaného tlaku a teploty
- tzv. *focused MAE* (FMAE) – použití otevřené nádoby za atmosférického tlaku

Výhody mikrovlnné extrakce :

- urychlení reakce
- malé objemy rozpouštědel
- potlačení vedlejších reakcí
- vysoká účinnost extrakce
- zvýšení čistoty produktů
- možnost studia průběhu reakce v závislosti na podmínkách [20]

### **3.8.2.5 Superkritická fluidní extrakce (SFE)**

Tzv. extrakční metoda s tekutinou v nadkritickém stavu, se začala používat až v posledních letech 20. století, kdy trh zahltily extrakční přístroje, které nevyžadovaly žádnou speciální

obsahu. Tato metoda je založená na izolaci analytů ze vzorku pomocí tekutiny v nadkritickém stavu. Tento stav extrakčního činidla je definován hodnotami, které leží nad kritickou teplotou a kritickým tlakem, v tzv. nadkritické oblasti. Používá se zejména k extrakci pevných vzorků (sedimenty, rostlinné matrice).

Výhodami jsou:

- krátký extrakční čas
- malá spotřeba organických rozpouštědel
- vysoká selektivita
- získávání čistých extraktů (není potřeba další čistící krok)

Extrakční patrony obsahují zachytávače lipidů, což umožňuje získání „fat-free“ extrakty (silikagel, florisil, oxid hlinitý).

Nevýhody:

- omezená velikost extrakční cely
- vysoká pořizovací cena
- nutnost optimalizace pro různé matrice

Nejvyužívanější superkritický fluid je oxid uhličitý pro své optimální podmínky (nízká kritická teplota – 31,3°C, nízký kritický tlak – 72,2 atm, snadno se odstraňuje po extrakci, nízká cena)

### 3.8.3 Čištění vzorku

Po použití většiny extrakčních technik, které nejsou dostatečně selektivní, je před finálním krokem nutné přečištění analytu. Nedostatečná selektivita se projevuje tak, že během extrakce dochází nejen k izolaci cílových analytů, ale i ostatních látek jako jsou lipidy nebo pigmenty. Potom tedy i cílové stanovní mohou ovlivnit:

- lipidy, které mohou kontaminovat nástřikový prostor nebo kolonu u plynového chromatografu
- koeluze cílových analytů s ostatními kontaminanty
- jiné sloučeniny, které mohou způsobovat indifferenci píků nebo kolísání odezvy (negativní píky)

Nejčastěji používanými „clean-up“ technikami jsou nedestruktivní: gelová permeační chromatografie (GPC), adsorpční chromatografie, dialýza a destruktivní :saponifikace nebo oxidativní dehydratace.

#### 3.8.3.1 Gelová permeační chromatografie

Gelová permeační chromatografie (GPC) je separační technika založená na rozdělování látek podle molekulové hmotnosti. Princip separace spočívá v tom, že látky s vyšší molekulovou hmotností, jejichž efektivní objem přesahuje rozměry pórů gelu, procházejí společně s mobilní fází kolonou bez zadržení, zatímco molekuly menší přechodně vstupují do vnitřní struktury gelu a jsou tak zadržovány.

Stacionární fází je hydrofobní gel, který je nabobtnán elučním rozpouštědlem. Nejběžnějšími stacionárními fázemi bývají kopolymery styrenu a vinylbenzenu často modifikované rozdílnými funkčními skupinami a jeho polydextrany [21,22]. V laboratořích se často používá Bio-Beads SX-3 (zrnitost 200-400 mesh). Kolony se používají v různých velikostech od

50 x 10 mm až do 600 x 25 mm [23]. Jako mobilní fáze se používá hexan, chloroform, dichlormethan.

Metoda GPC je vhodná pro přečištění většiny extraktů získaných z živočišných a rostlinných matric. Při přečištění se z kolony eluují nejdříve koextrahované lipidické sloučeniny, následují malé molekuly analytů zahrnující většinu organických kontaminantů kumulujících se v biologických tkáních. Tento separační proces je vhodný např. pro stanovení stopových kontaminantů v rybách, neboť většina těchto xenobiotik je transportovaná přes žábry ryb propouštějící látky do řádově stejné velikosti [23]

### **3.8.3.2 Adsorpční kolonová (sloupcová) chromatografie na polárních adsorbentech**

Jako polární adsorbenty se používají zrnité materiály na bázi silikagelu a méně často na bázi oxidu hlinitého. Pro dobrou adsorpci je nutný velký povrch těchto adsorbentů. Kulovité částice adsorbentu v sobě obsahují póry. Mobilní fáze hraje v kapalinové chromatografii neméně významnou roli než stacionární fáze. Neměla by mít příliš velkou viskozitu, aby nekladla odpor proti převodu hmoty a protékala kolonou při určitém tlaku s dostatečnou rychlostí. Neměla by chemicky narušovat nebo vymývat stacionární fázi.

Mobilní fáze se charakterizuje svou eluční silou. Čím má rozpouštědlo větší eluční sílu, tím více se adsorbuje na stacionární fázi a tím rychleji eluuje složky, neboť s nimi soutěží o místo na povrchu adsorbentu. Nejčastěji se používá h-hexan, dichlormethan nebo aceton popřípadě jejich směsi [24]. Přečištění extraktu probíhá nanesením vzorku a následnou gradientovou elucí rozpouštědlem přes kolonu naplněnou vhodným adsorbentem, kde dojde k oddělení lipidických materiálů od cílových analytů. [26]

### **3.8.4 Separace chromatografií**

Analýza PBDE klade poměrně vysoké nároky na instrumentaci, protože se vyskytují ve velmi nízkých koncentracích (řádově v ng). Plynová chromatografie je dominantní koncovkou pro stanovení nepolárních semivolatilních toxických látek (PCDD, PCDF, PCB, PBDE a dalších) přítomných ve vzorcích životního prostředí. Zatímco v případě PCB se používá téměř výlučně vysokorozlišovací plynová chromatografie (HRGC), obvykle ve spojení s detektorem elektronového záchytu (ECD) nebo hmotnostním detektorem (MS), u stanovení PBDE nachází uplatnění především GC-MS (NCI).

Každý proces plynové chromatografie zahrnuje nástřik vzorku, separaci sloučenin a jejich detekci. V případě kapilárních kolon se používá nástřik tzv. *splitless* nebo *on-column* technika. Splitless nástřik (viz. Obrázek 6) je nejčastěji používanou technikou pro reálné vzorky. Může však docházet k významné diskriminaci cílových analytů vzhledem k širokému rozsahu bodů varů směsi PBDE. Při využití techniky on-column je sice dosaženo lepších výsledků než v případě předchozí techniky, nicméně citlivost k nečistotám v nástřikové oblasti je zde mnohem vyšší. Účinnost plynové chromatografické separace závisí především na následujících parametrech:

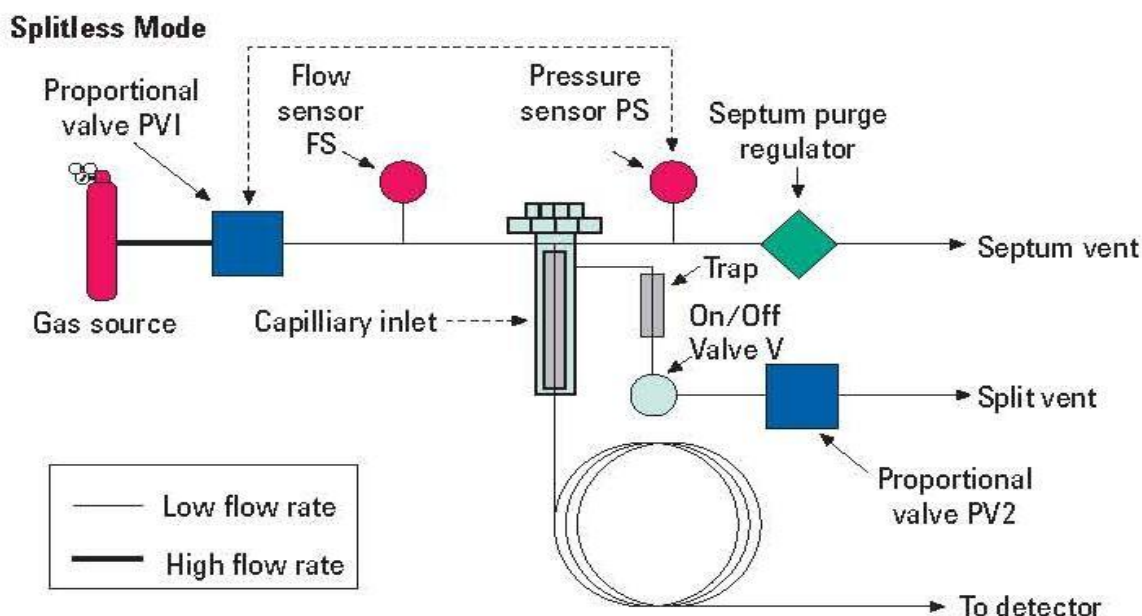
- Nosný plyn

Preferovaným nosným plynem je vodík, protože poskytuje dobré rozlišení i při vyšších rychlostech. Při použití helia a zejména dusíku rozlišení klesá se vzrůstající rychlostí nosného plynu. pro kolony s průměrem větším než 20 mm lze helium použít za cenu menšího rozlišení ve srovnání s vodíkem. Dusík není příliš vhodný pro použití jednokolonové kapilární GC z důvodu snížení separační účinnosti kolony.



- Druh kolony a stacionární fáze

Pro separaci se téměř výhradně používá křemenné kapilární kolony s chemicky vázanými stacionárními fázemi, které umožňují programování teploty v rozmezí 40-350 °C. Hlavními zástupci nepolárních stacionárních fází jsou modifikované polysiloxany (silikony).



Obrázek 6: Schéma GC „splitless mode“

### 3.8.5 Hmotnostní spektrometrie (MS)

Hmotnostní spektrometrie je jednou z nejdůležitějších technik detekce, která poskytuje nejen dostatečnou citlivost a selektivitu pro stanovení PBDE, PCB, PCDD a PCDF, ale umožňuje také confirmaci nálezů. Jde tedy o významnou techniku pro identifikaci stopových množství analytů, při kterých lze použít buď vysokorozlišovací hmotnostní spektrometr (HRMS) pracující obvykle s ionizačním nárazem elektronů (EI), nebo nízkorozlišovací hmotnostní spektrometr (LRMS) za použití EI nebo negativní chemické ionizace (NCI). Výhodou HRMS je vysoká selektivita detekce a tedy i velmi vysoká míra spolehlivosti identifikace analytů i při chromatografické separaci, kde dochází ke koelucím. Nevýhodou techniky HRMS je vliv přítomných intercedentů, které ačkoli nejsou detekovány při sledování vybraného iontu, mohou interferovat v iontovém zdroji a tak snižovat signál sledovaného kongeneru PBDE. Citlivost MS detekce závisí také na použité ionizační technice:

- ionizace nárazem elektronů
- negativní chemická ionizace
- pozitivní chemická ionizace

Pro bromované látky se nejčastěji používá EI a NCI. Zvlášť technika MS-NCI je velmi vhodná pro identifikaci kongenerů PBDE ve stopových množstvích, neboť se vyznačuje vysokou citlivostí k halogenovaným sloučeninám. Odezva detektoru při NCI na rozdíl od EI výrazně roste se stupněm bromace, pro 5 a více bromované difenyl ethery se však už výrazně nemění.

K separaci vzniklých iontů se používají různé hmotnostní analyzátory. Výběr analyzátoru je určen hmotnostním rozsahem, rozlišením či snímací rychlostí. Hmotnostní analyzátory mohou být rozděleny do dvou hlavních skupin na *scanovací* a *nescanovací*.

- Kvadrupól (scanovací analyzátor)

Kvadrupól se skládá ze čtyř křemenných tyčí kruhového průřezu symetricky uspořádaných vzhledem k podélné ose a protilehle připojených na potenciál. Vytvořené ionty vstupují do kvadrupólu, kde oscilují mezi elektrodami opačné polarity. Ionty určité hmotnosti dosáhnou při určité hodnotě radiofrekvence stabilních oscilací, zatímco ionty jiných hmotností oscilují s rostoucí amplitudou a jsou zachyceny na tyčích kvadrupólu. Ke snímání iontů a kvantifikaci analytů lze teoreticky použít dva režimy. V režimu SCAN jsou snímány všechny ionizací vzniklé ionty, zatímco v režimu SIM jsou snímány pouze předem vybrané ionty, které se používají pro kvantifikaci. Metoda SCAN má nižší citlivost a využívá se spíše k identifikaci na vyšších koncentračních hladinách. V případě použití modu SIM je dosaženo vyšší citlivosti zvýšením akvizičního času vzhledem k zúžení okruhu snímaných iontů, ovšem za cenu ztráty ucelené spektrální informace

- Iontová past – ITD (scanovací analyzátor)

V případě iontové pasti jde o systém využívající třídimenzionální kvadrupól (tři elektrody). V prvním kroku dochází k ionizaci sloučenin uvnitř pasti a vzniklé ionty konají kruhový pohyb. Poté je zvýšena frekvence vnitřní elektrody, dráhy iontů s menší hmotností se stanou nestabilní a začnou vyletovat ven z pasti, kde jsou zaznamenávány elektronovým násobičem. Tato metoda umožňuje získání plných spekter i při nízkých koncentracích, čímž dále zvyšuje konfigurační potenciál detekce i na ultrastopových hladinách. Kromě „*Full Scanu*“ a SIM modu může navíc tento analyzátor operovat v modech „*Segment Scan*“ a MS/MS. „*Segment Scan*“ je mod podobný „*Full Scanu*“, s tím rozdílem, že je možno zvolit monitorování několika úseků s různými hmotnostními rozsahy. V modu MS/MS jsou molekuly vzorku ionizovány v iontovém zdroji specifické ionty jsou izolovány a následně fragmentovány na ionty dceřinné. Aplikace MS/MS má za následek zvýšení specifiky a detekční schopnosti. V režimu SCAN při ITD mohou být získána data na hladinách pg/g. Této metody se využívá k analýze PBDE v biotě.

- Time-of-flight – TOF (nescanovací analyzátor)

Jedná se o hmotnostní analyzátor, který nabízí velkou akviziční rychlost, čímž je vhodný nejen pro klasické, ale také pro vysokorychlostní chromatografické separace. Jeho nevýhodou je oproti scanovacímu analyzátoru vysoká pořizovací cena. V případě TOF analyzátoru jsou ionty vzniklé v iontovém zdroji separovány na základě jejich rozdílné doby průletu letovou trubicí. Doba průletu je přitom úměrná odmocnině  $m/z$  iontu a pohybuje se v řádu mikrosekund. GC-TOF-MS může pracovat ve dvou konfiguracích: „*high speed*“ (vysokoakviziční TOF) nebo „*high resolution*“ (vysokorozlišovací TOF). Výhody, které TOF dává je několik:

- vysoké hmotnostní rozlišení
- vysoká akviziční rychlost
- vysoký hmotnostní rozsah
- vysoká přesnost
- akvizice plných spekter [25]

## 4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 4.1 Použité přístroje, zařízení a software

#### 4.1.1 Zařízení pro přípravu a extrakci vzorků

- Analytické váhy HR-120, A&D Instruments, Japonsko
- Rotační vakuová odparka RVO Büchi Rotavapor R-205 s vodní lázní B-490 a elektronickým řízením vakua V-800, Švýcarsko
- Sušárna ULE 500, Memmert, Německo
- Ultrazvuková vodní lázeň, typ Teston 4, Tesla ČR
- skleněná kolona pro sloupcovou chromatografii a další běžné vybavení analytické laboratoře

#### 4.4.2 Zařízení pro plynovou chromatografii

- Plynový chromatograf 6890N Network GC-ECD, USA
- Automatický dávkovač vzorku-injektor (2 µl) 27683 Series pro plynový chromatograf , Agilent, USA
- Split/splitless injektor s automatickým řízením tlaku
- Kapilární křemenné kolony s chemicky vázanou stacionární fází, společně zapojené do jednoho inletu:
- DB-17MS (50% phenyl; 50% methylpolysiloxan), 60 m x 0,25 mm x 0,25 µm, Agilent USA
- HT-8 (8% fenylpolykarbonsiloxan) 50 m x 0,22 mm x 0,25 µm, Agilent, USA
- Detektor (2x) elektronového zachytu s mikrocelou (µ-ECD), make up flow 10 ml/min N<sub>2</sub>, Agilent USA

#### 4.4.3 Software pro zpracování dat a prezentaci výsledků

- HPCORE Chemstation GC 6890N, Instrument 1 Offline (pro vyhodnocování)
- HPCORE Chemstation GC 6890N, Instrument 1 Online (pro měření)
- Microsoft Excel 2000, verze 9.0 (Microsoft Corporation, USA)
- Microsoft Word 2000, verze 9.0 (Microsoft Corporation, USA)

### 4.2 Chemikálie, spotřební materiál a stadardy

#### 4.2.1 Rozpouštědla

Petrolether, n-hexan, směs rozpouštědel dichlormethan : n-hexan (1:1), isooktan

#### 4.2.2 Ostatní chemikálie a materiály

- silikagel aktivovaný při 105°C po dobu 5 hodin (Aldrich, Německo)
- florisil aktivovaný při 550°C po dobu 16 hodin (Aldrich, Německo)
- síran sodný bezvodý, vysušený žiháním při 650°C (Onex, ČR)
- mikrovata Akuver, odtučněná ponořením v acetonu po dobu 2 hodin (Vertex, ČR)
- kapalný dusík t = -196°C (Messer, ČR)
- dusík (Messer, ČR)

#### 4.2.3 Použité standardy

Standardy kongenerů BDE 3, 15, 28, 47, 99, 100, 118, 153, 154, 183, všechny o koncentracích 50 µg/ml v isooktanu (Accu Standard, New Hawen USA)

## 4.3 Pracovní postupy

### 4.3.1 Sledované kongenery

BDE 28	2,4,4'-tribrom difenyl ether	CAS: 41 318-75-6
BDE 47	2,2',4,4'-tetrabrom difenyl ether	CAS: 5436-43-1
BDE 99	2,2',4,4',5-pentabrom difenyl ether	CAS: 60 348-60-9
BDE 100	2,2',4,4',6-pentabrom difenyl ether	CAS: 189 084-64-8
BDE153	2,2',4,4',5,5'-hexabrom difenyl ether	CAS: 686 631-49-2
BDE 154	2,2',4,4',5,6'-hexabrom difenyl ether	CAS: 207 122-15-4
BDE 183	2,2',3,4,4',5,6'-heptabrom difenyl ether	CAS: 207122-16-5
BDE 209	2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-dekabrom difenyl ether	CAS: 1163-19-5

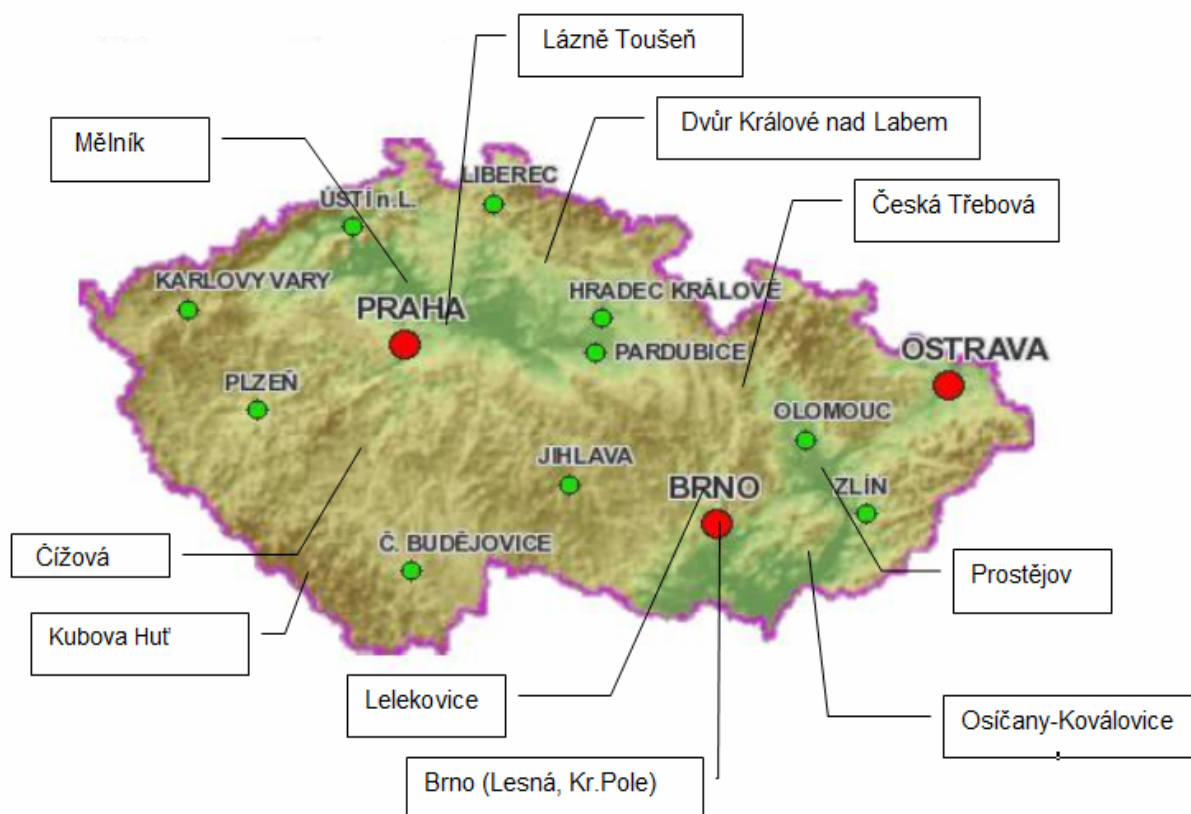
další kongenery: BDE 3, BDE15, BDE 118

### 4.3.2 Princip stanovení

PBDE byly izolovány ze vzorků různými extrakčními metodami, jejichž postupy jsou popsány v následujícím textu. Získané extrakty byly následně přečištěny pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu a florosilu. Identifikace a kvantifikace byla provedena pomocí plynové chromatografie s využitím detektoru elektronového záchytu ( $\mu$ ECD). Obsahy jednotlivých kontaminantů byly vyjádřeny na základě srovnání s individuálními standardy metodou kalibrační křivky. Pro kvalitativní analýzu byly porovnávány s retenčními časy použitých standardů.

### 4.3.3 Vzorkování

Vzorky borovice lesní, smrku ztepilého a popř. smrku stříbrného, byly odebrány z náhodně vybraných lokalit České republiky s různým zatížením kontaminace viz Obrázek 7. Vzorkování probíhalo v časovém rozmezí měsíce března a dubna 2008. Ze vzorkovaného objektu byl vždy odebrán vzorek o velikosti cca 0,5 m tak, aby neobsahoval mladé jehličí nebo pupeny jehličí. Odebíralo se jehličí minimálně rok staré z důvodu většího obsahu kontaminantů. Vzorky byly následně uzavřeny v PE sáčkách a po dobu schraňování vzorků zachlazeny na teplotu  $-5^{\circ}\text{C}$ . Bylo odebráno 20 vzorků, vždy 10 smrků a 10 borovic.



Obrázek 7: Vybrané vzorkované lokality

Tabulka 6: Přehled vzorků a jejich kódování

Lokalita	druh vzorkovaného objektu	kód vzorku	
Lázně Toušeň	smrk	I1	II1
	borovice	I13	II13
Kubova Huť	smrk	I2	II2
	borovice	I15	II15
Česká Třebová	smrk	I6	II16
	smrk	I4	II4
Čížová	smrk	I5	II5
	borovice	I18	II18
Brno-Lesná	smrk	I7	II7
	borovice	I14	II14
Dvůr Králové n/L	smrk	I9	II9
	borovice	I11	II11
Osíčany-Koválovice	smrk	I8	II8
	borovice	I12	II12
Opava	smrk	I10	II10
	borovice	I20	II20
Lelekovice	borovice	I17	II17
Prostějov	smrk	I3	II3
Brno-Kr. Pole	borovice	I19	II19
Mělník	borovice	I16	II16

#### **4.3.4 Úprava vzorků**

Jehličí bylo odstraněno z dřevěné části vzorku, následně rozstříháno a po zmrazení kapalným dusíkem rozdrobeno. Z takto upraveného vzorku bylo na analytických vahách naváženo 30 g. Těchto 30 g bylo louhováno po dobu 14 dnů ve 100 ml směsi rozpouštědel (petrolether:n-hexan, 6:94). Po 14 dnech bylo provedeno vysušení extraktu pomocí vyžíhaného bezvodého síranu sodného filtrací. Získaný filtrát byl do sucha odpařen na vakuové odparce a zbytek byl rozpuštěn v 1,5 ml n-hexanu. Dále byl vzorek přečištěn na koloně přes silikagel a florisil. Jako mobilní fáze byl použita směs rozpouštědel n-hexan:dichlormethan (1:1) o objemu 40 ml. Získaný eluát byl odpařen na vakuové odparce do sucha a rozpuštěn v 0,5 ml isooktanu a kvantitativně převeden do vialky.

##### **4.3.4.1 Sonikace**

Po vyluhování a vysušení extraktu, byla provedena sonikace se zbylou matricí, ke které bylo přidáno znovu 100 ml výše uvedeného rozpouštědla. Po tomto kroku byla provedena sonikace. Další postup byl identický postupem v bodě 4.3.4.

##### **4.3.5. Identifikace a kvantifikace stanovovaných analytů**

Analýza standardů a stanovovaných kongenerů byla provedena na plynovém chromatografu (GC- $\mu$ ECD). Nástřik vzorků do dvou paralelních kapilárních kolon s odlišnou selektivitou probíhal současně a objem nástřiku byl 2  $\mu$ l (HT-8, DB-17 MS). Identifikace stanovovaných PBDE byla provedena porovnáním retenčních charakteristik se standardy. Kvantifikace byla provedena metodou vícebodové kalibrační křivky pro každý analyt (porovnání plochy píků).

#### **4.3.6 Podmínky měření**

##### **4.3.6.1 Podmínky vyluhování**

tlak:	atmosferický
teplota:	laboratorní (20-25°C)
navážka:	30 g
dobu vyluhování:	14 dní
extrakční činidlo:	100 ml směsi n-hexan:petrolether (94:6)

##### **4.3.6.2 Podmínky sonikace**

tlak:	atmosferický
teplota lázně:	55°C
dobu extrakce:	30 minut
navážka:	30 g
extrakční činidlo:	100 ml směsi n-hexan:petrolether (94:6)

##### **4.3.6.3 Podmínky odpařování**

tlak:	335 mBar
teplota lázně:	40°C
dobu odpařování:	15-20 minut
otáčky:	35 ot/min

#### **4.3.6.4 Podmínky plynové chromatografie**

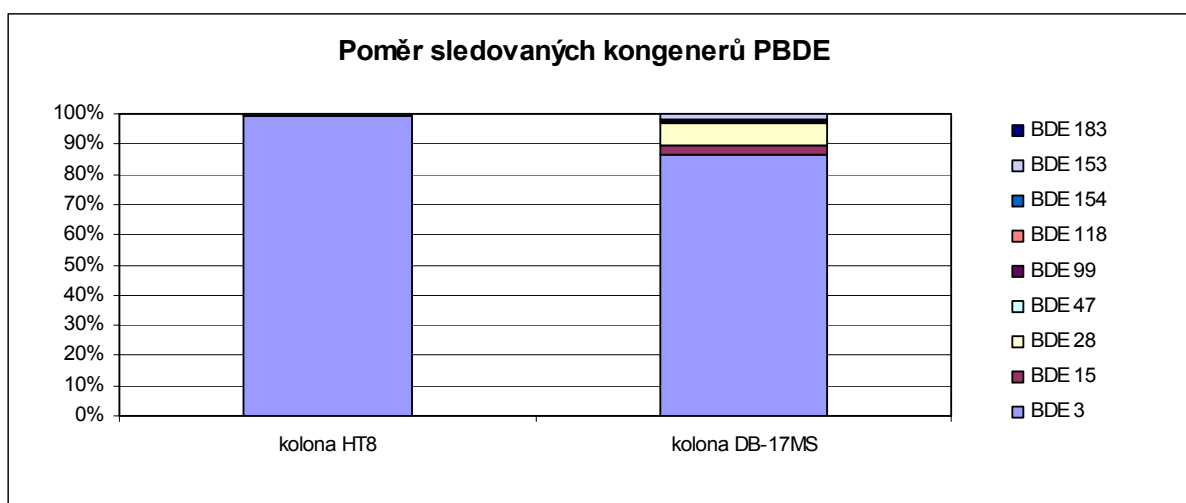
teplota nástřiku:	90°C
teplotní program PTV:	od 100°C (zádrž 2 min) do 200°C po 30°C/min na 200°C (zádrž 3 min) do 230°C po 3°C/min (zádrž 15 min) do 270°C po 5°C/min (zádrž 15min) do 310°C po 10°C/min (zádrž 10 min)
nástřikové množství:	2 µl
doba analýzy:	70 min 33 s
nosný plyn:	dusík
průtok nosného plynu:	1,5 ml/min
lineární rychlost nosného plynu:	38 cm <sup>3</sup> /s

## 5. VÝSLEDKY A DISKUZE

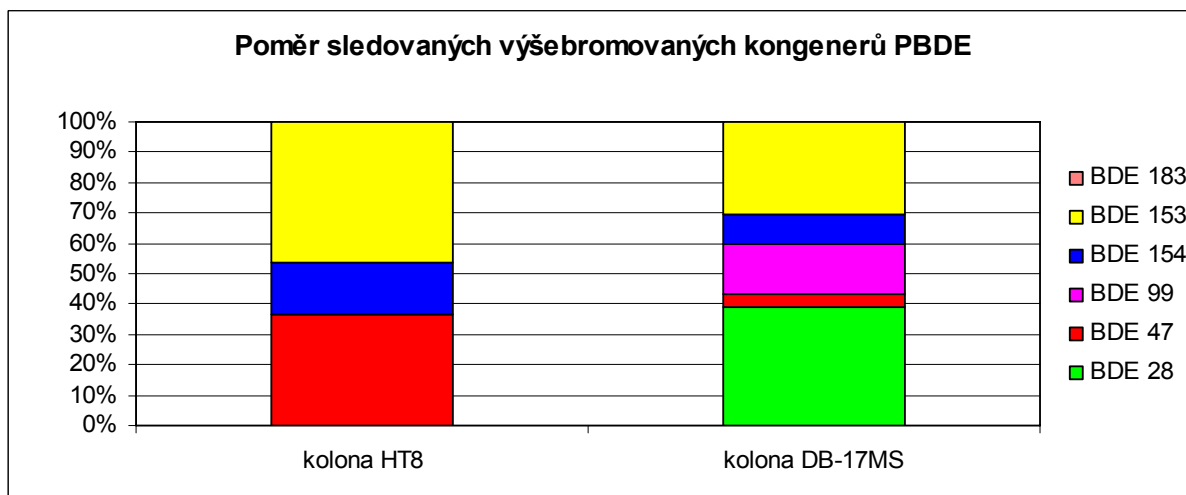
V jednotlivých vzorcích byly stanovovány výše uvedené vybrané kongenery a navíc nízebromované BDE 3, BDE 15.

### 5.1 Zastoupení jednotlivých kongenerů ve vzorcích

Z Grafu 4 je patrné, že vzorky obsahovaly převážně nízebromované kongenery zejména pak BDE 3 v menší míře BDE 15 a BDE 28. Tyto kongenery byly obsaženy téměř ve všech vzorcích. Pro přehlednost je uveden v Grafu 5 poměr stanovovaných výšebromovaných kongenerů včetně kongeneru BDE 28, jejichž množství bylo ve srovnání s kongenerem BDE 3 zanedbatelné. Nejvíce zastoupený byly kongenery BDE 153, BDE 154, BDE 47 a ve čtyřech vzorcích byl pak nalezen kongener BDE 99, který byl detekován pouze kolonou DB-17MS.



Graf 4: Poměr celkového množství sledovaných kongenerů

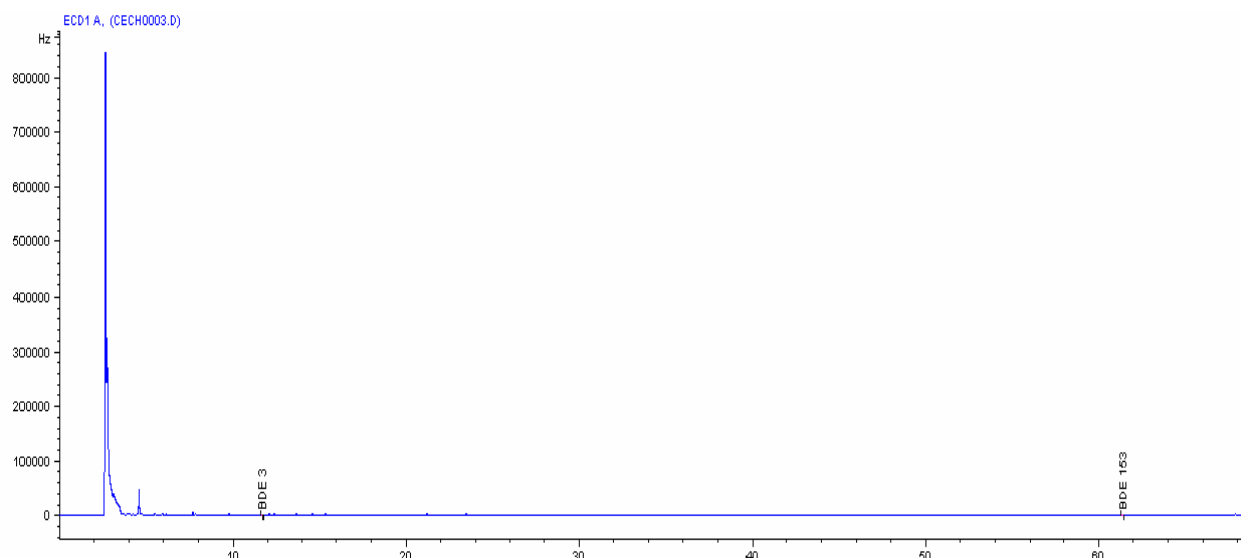


Graf 5: Poměr sledovaných výšebromovaných kongenerů

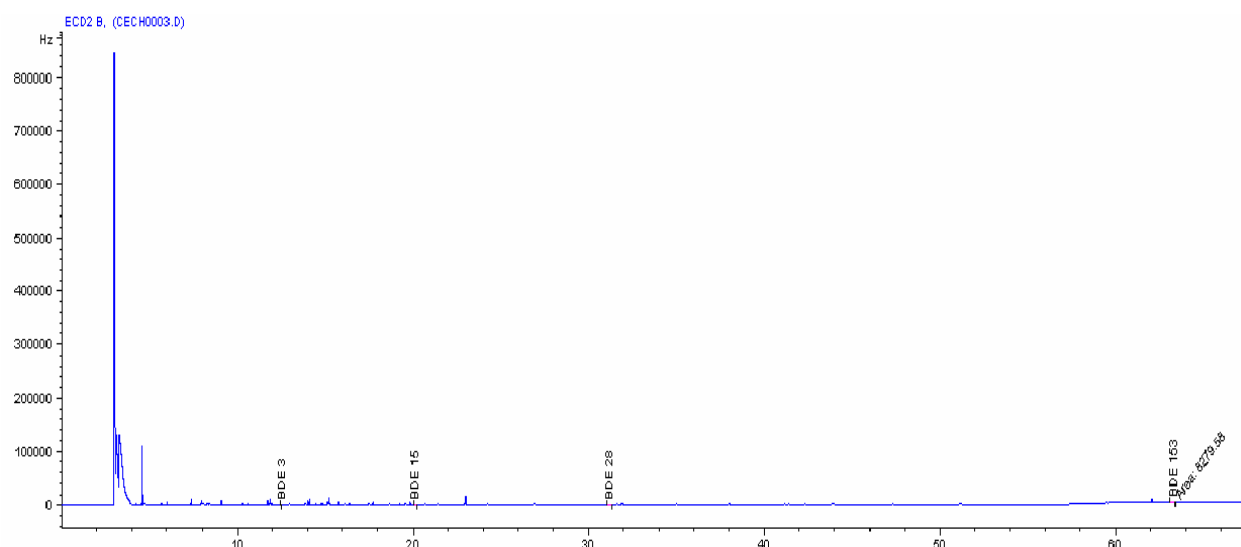


## 5.2 Účinnost separace sledovaných analytů

V tomto případě jsou porovnávány výsledky měření ze dvou různých kolon s odlišnými stacionárními fázemi a různými délkami. Délka a náplň kolony měla vliv na retenční charakteristiky. Kolona HT8 má kratší délku a proto nebyla umožněná dostatečná separace látek, což se projevilo na retenčním čase, tvaru píků a na množstvích jednotlivých kongenerů. Porovnání separace dvou kolon je ukázáno na grafu 6 a 7 např. u kongeneru BDE 3, jehož retenční čas je na koloně HT8 11,8 minut a na koloně DT-17MS 12,4 minuty.



Graf 6: Chromatogram, vzorek 3, kolona HT8



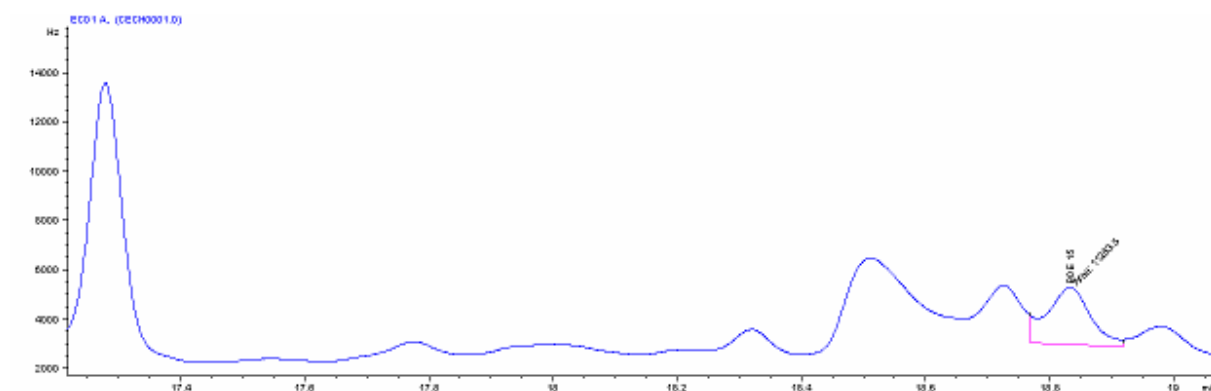
Graf 7: Chromatogram, vzorek 3, kolona DB-17MS

První pík na chromatogramu je pro rozpouštědlo isooktan, další píky, které se zde objevují jsou jiné oragnohalogenované sloučeniny, jako jsou např. PCB, DDT aj.

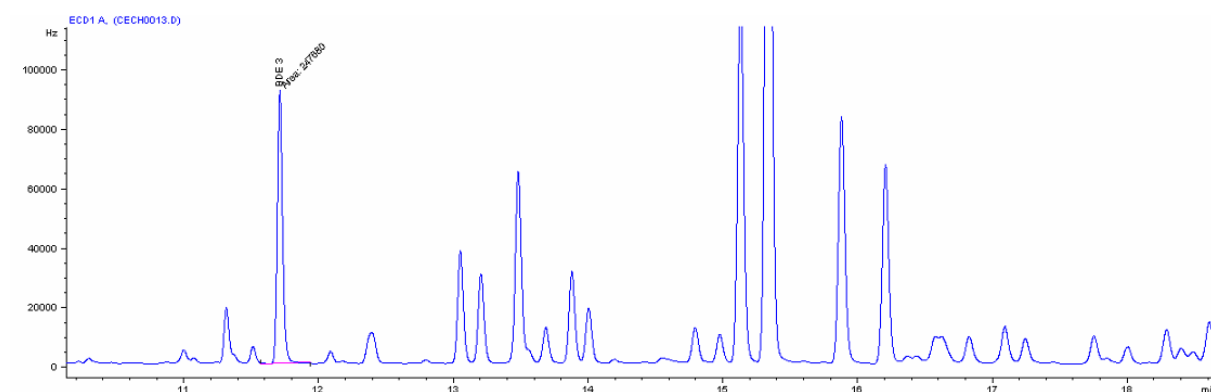
### 5.3 Výskyt sledovaných kongenerů PBDE ve vybraných lokalitách

V následující kapitole jsou shrnuty výsledky sledování výskytu vybraných kongenerů PBDE ve vzorcích jehličí z různých lokalit. Ve vzorcích jehličí se vyskytují velice malá množství PBDE, jak je vidět z velikosti píků na chromatogramech (viz Graf 6 a 7). Proto jsou ukázány vždy jen výřezy chromatogramů, na kterých jsou píky kongenerů dobře patrné. U každého vzorku jsou uvedeny výsledky z kolony A (HT8) a B (DB-17MS) v celkovém množství kongenerů (ng/g jehličí) a množství jednotlivých kongenerů (ng/g jehličí).

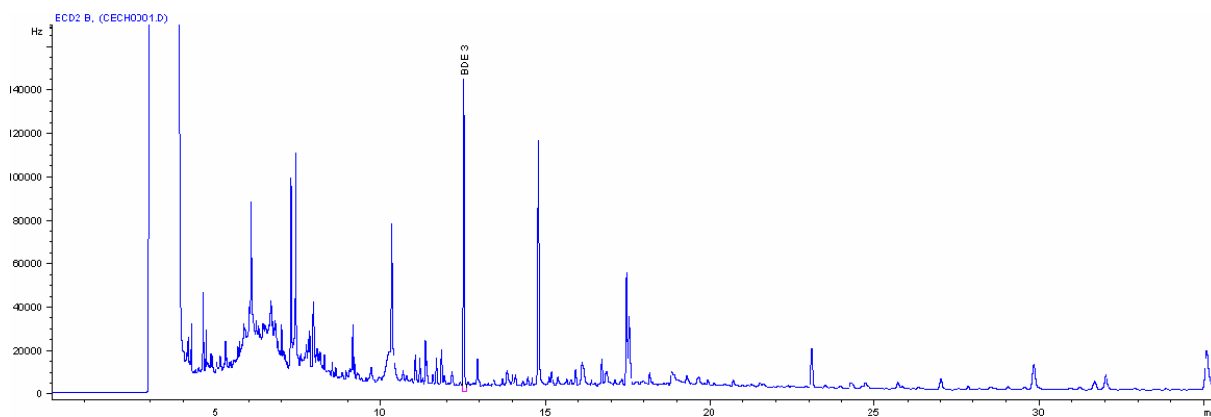
#### 5.3.1 Lázně Toušeň



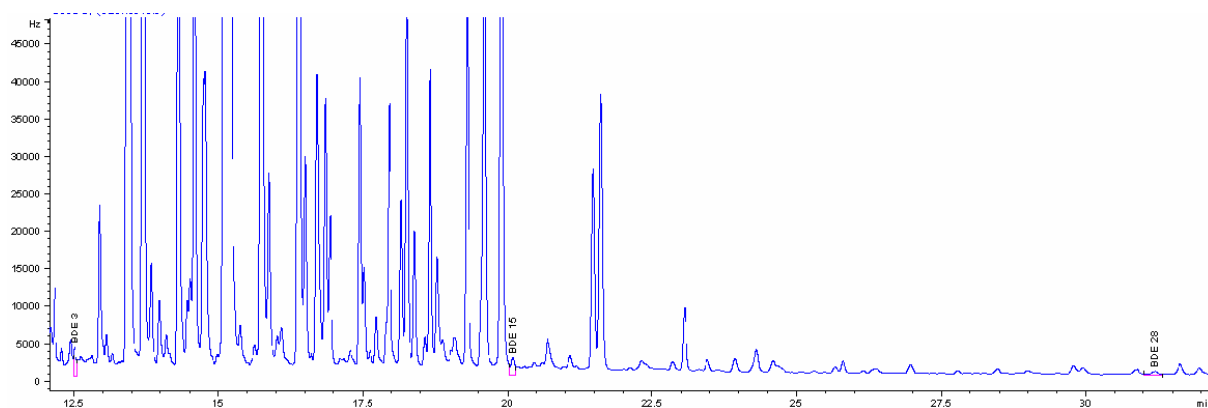
Graf 8: vzorek č. 1 smrk A



Graf 9: vzorek č. 13 borovice A



Graf 10: vzorek č. 1 smrk B



Graf 11: vzorek č. 13 borovice B

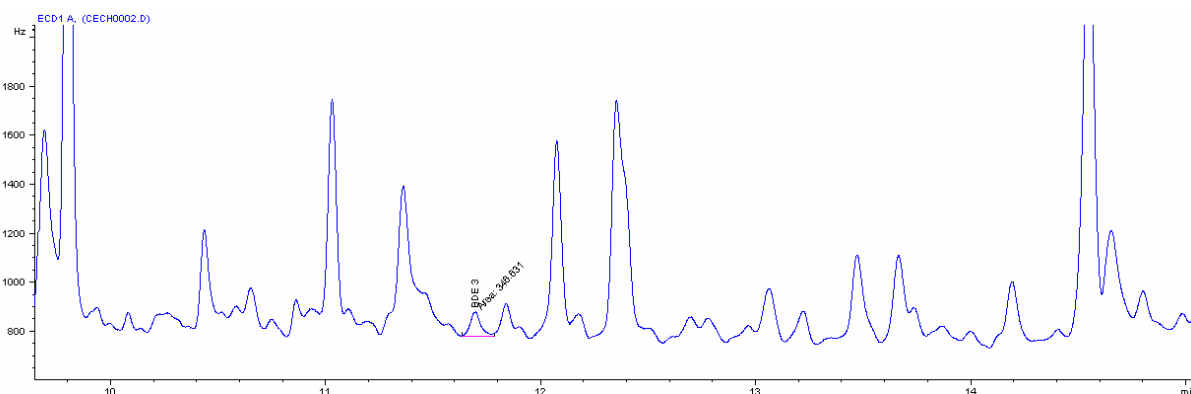
Ve vzorcích I1 a I13 z oblasti Lázně Toušeň byly stanoveny tyto kongenery:

Tabulka 7: výsledky oblasti Lázně Toušeň

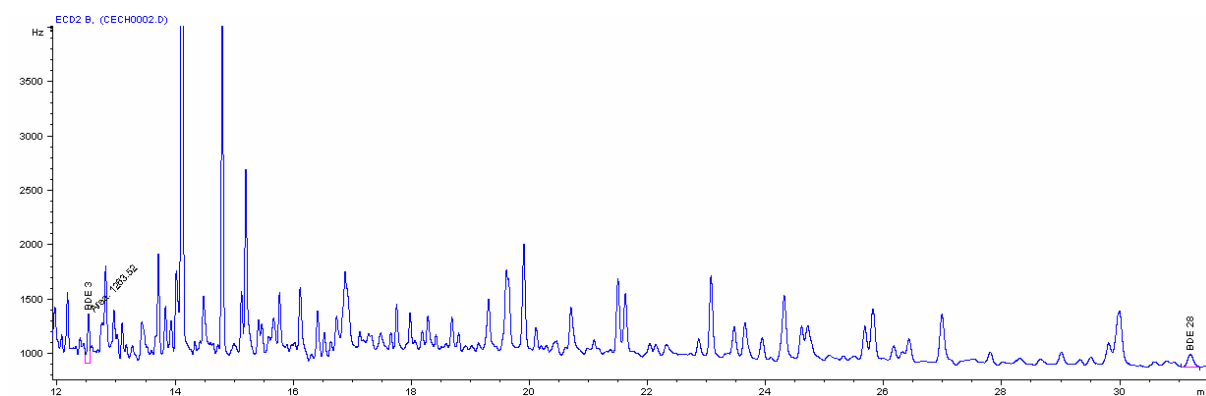
kongenery	smrk (I1)		borovice (I13)	
	A	B	A	B
BDE 3	-	57,2723	72,5536	2,60851
BDE 15	0,399519	-	-	0,26182
BDE 28	-	-	-	0,1487
BDE 153	-	-	-	0,25479
celkem	0,399519	57,27235	72,55356	3,273828

Prostředí, ze kterého byly vzorky odebrány, je zatěžováno kontaminací z domácností (spalování plastů) a z poměrně frekventované silniční komunikace. Kongenery přítomné v jehličí pocházejí především ze spalování. Vlivem pH, tepla nebo UV záření dochází k degradaci výšebromovaných kongenerů, proto v těchto vzorcích byly nalezeny zejména BDE 3,15 ve vyšších koncentracích.

### 5.3.2 Kubova Huť



Graf 12: vzorek č.2, smrk A



Graf 13: vzorek č. 2, smrk B

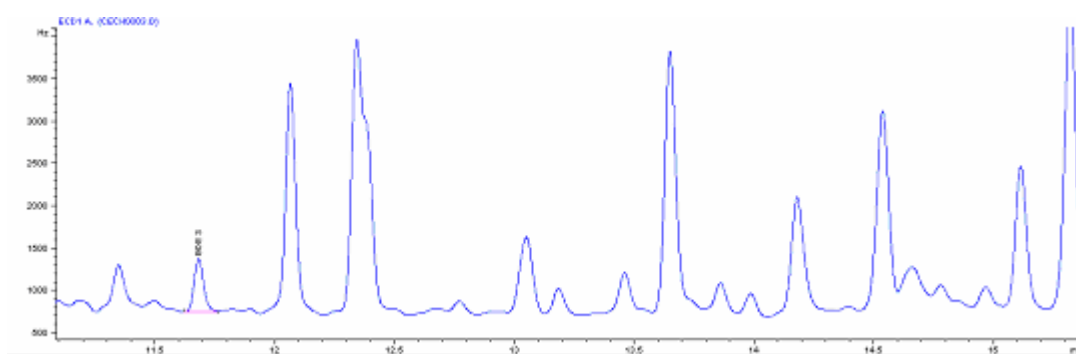
Ve vzorku I2 z oblasti Kubova Huť byly stanoveny tyto kongenery:

Tabulka 8: výsledky oblasti Kubova Huť

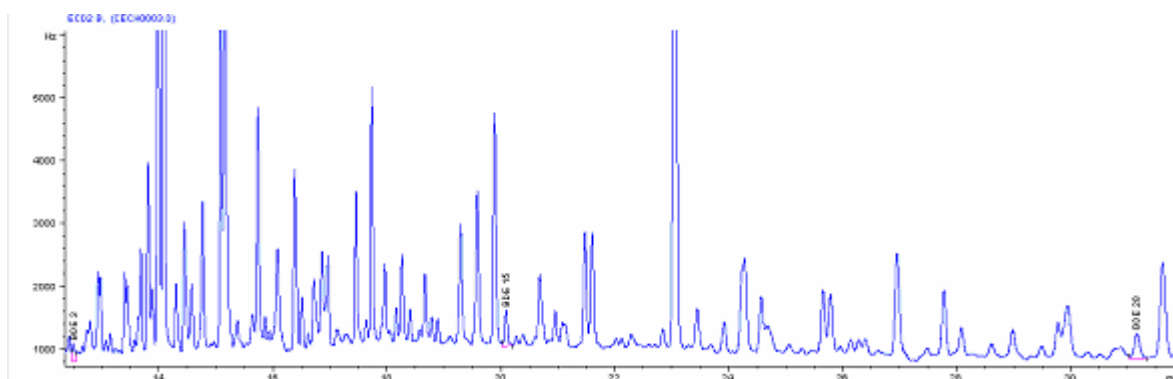
	smrk (I2)	
kongenery	A	B
BDE 3	0,178998	0,23796
BDE 15	-	-
BDE 28	-	0,13967
celkem	0,178998	0,37763

Kubova Huť se nachází v blízkosti Národního parku Šumava a ačkoli byly vzorky odebrány z prostředí blízko frekventované komunikace, koncentrace stanovovaných analytů není příliš vysoká (>1 ng/g jehličí). Tato oblast není zatížena kontaminanty z průmyslu, potenciálními znečišťovateli jsou zde pouze domácnosti a doprava. Ve vzorcích byly stanoveny pouze nížebromované kongenery.

### 5.3.3 Prostějov



Graf 14: vzorek č. 3, smrk A



Graf 15: vzorek č. 3, smrk B

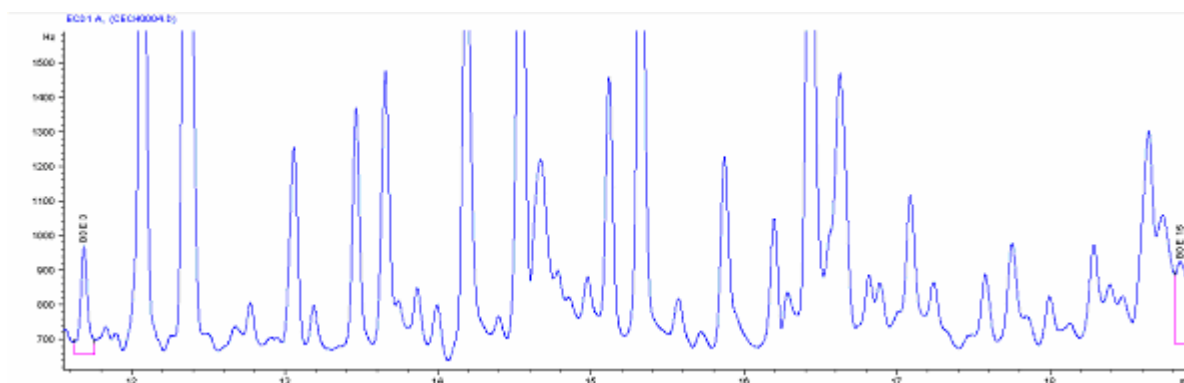
Ve vzorku I3 z oblasti Prostějov byly stanoveny tyto kongenery:

Tabulka 9: výsledky oblasti Prostějov

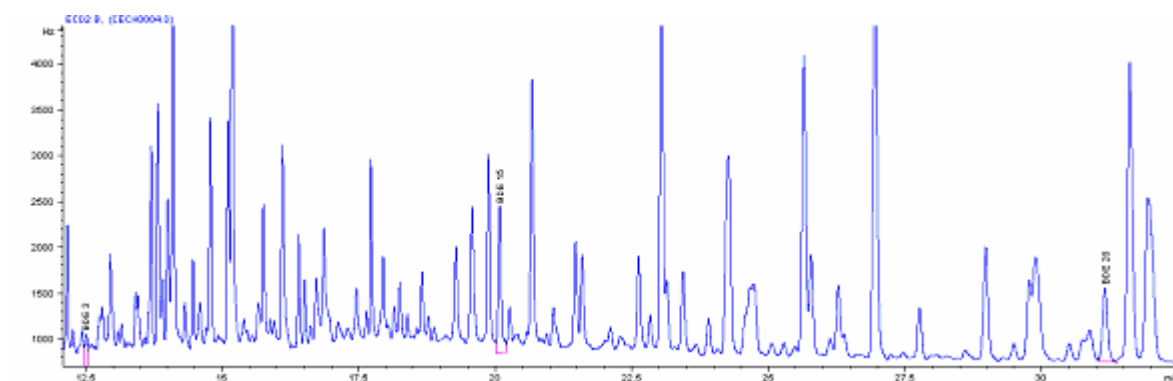
kongenery	smrk (I3)	
	A	B
BDE 3	0,59359	0,285428
BDE 15	-	0,152004
BDE 28	-	0,146891
BDE 153	0,30863	0,297148
celkem	0,90222	0,88147

Kontaminace této lokality pochází hlavně z oděvního a textilního průmyslu. Dalším možným zdrojem kontaminace jsou velké firmy v Přerově Precheza a.s a Precolor a.s. Ve vzorku jsou zastoupeny zejména nížebromované kongenery, z výšebromovaných je zde zastoupen BDE 153.

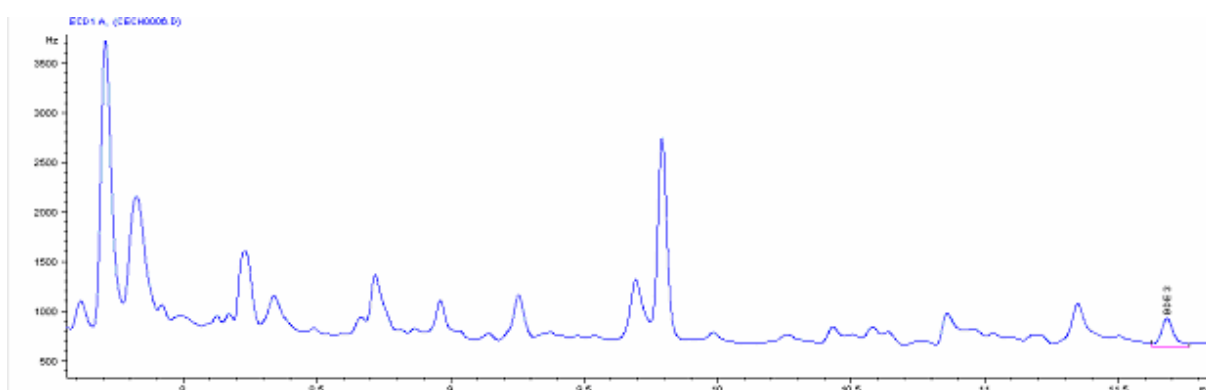
### 5.3.4 Česká Třebová



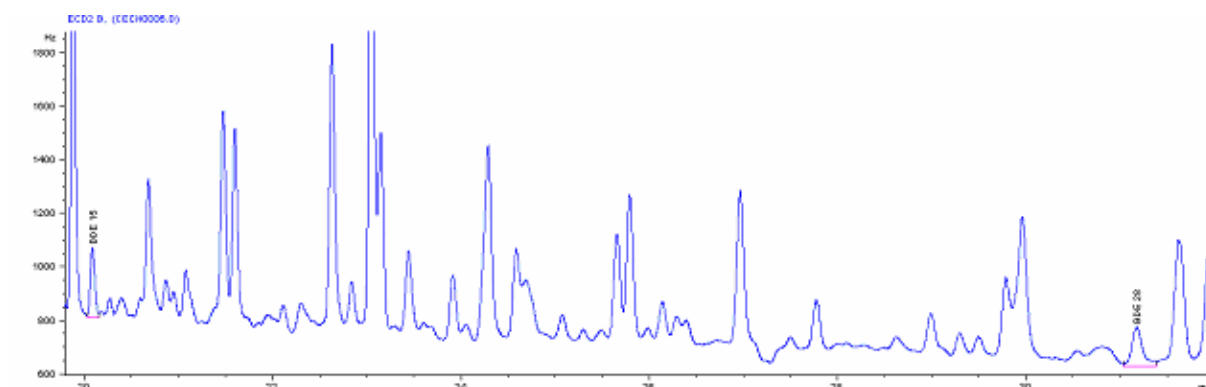
Graf 16: vzorek č. 14, smrk A



Graf 17: vzorek č.14, smrk B



Graf 18: vzorek č. 16, smrk A



Graf 19: vzorek č. 16, smrk B

Ve vzorcích I4 a I6 z oblasti Česká Třebová (různé lokality) byly stanoveny tyto kongenery:

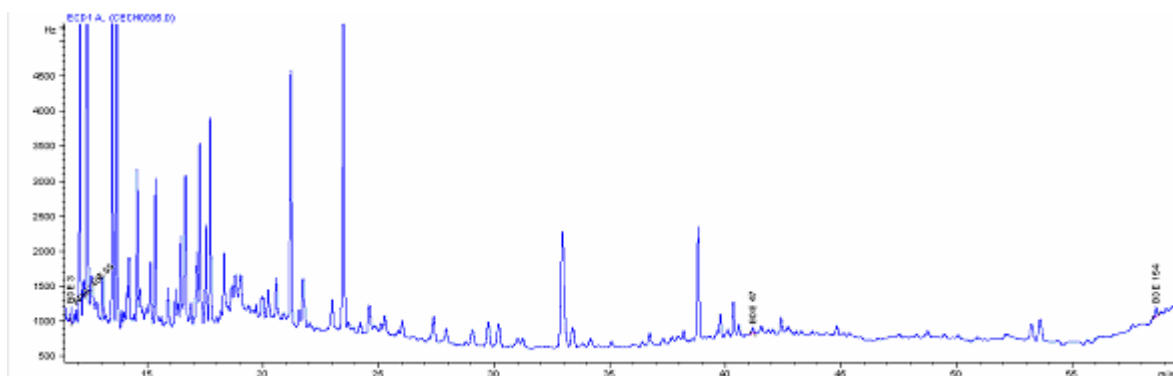
Tabulka 10: výsledky oblasti Česká Třebová

	smrk (I4)		smrk (I6)	
kongenery	A	B	A	B
BDE 3	0,39889	0,360044	0,36015	-
BDE 15	0,21462	0,20533	-	0,13742
BDE 28	-	0,153785	-	0,14085
BDE 153	-	-	-	0,25479
celkem	0,61351	0,719159	0,36015	0,53306

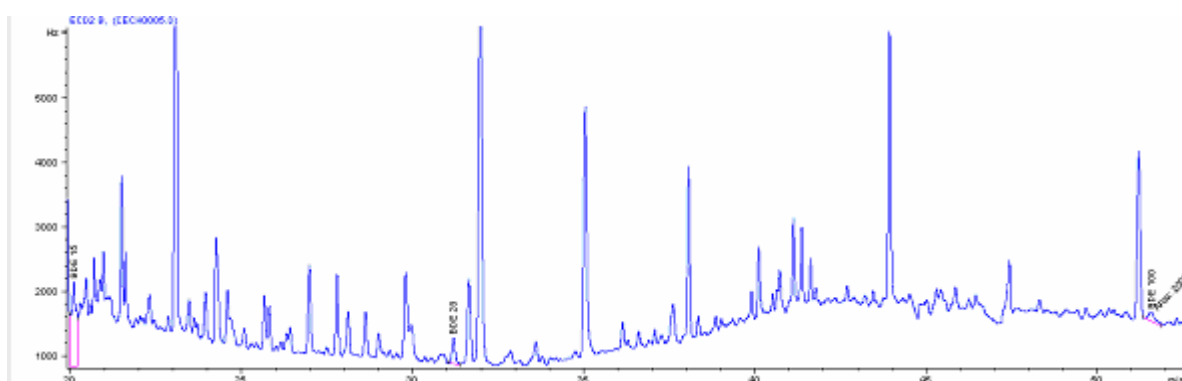
V této oblasti mají sídlo firmy, které se zabývají výrobou plastů. Jedná se zejména o firmu Böhm Plast-Technik, která produkuje výrobky pro automobily, telekomunikační zařízení, a

elektroniku. V těchto výrobcích se hojně vyskytují PBDE, kontaminace tedy pochází zřejmě z těchto zdrojů. Vzorčky byly odebírány v dostatečné vzdálenosti od zdroje kontaminace. Jednalo se o místo s vyšší koncentrací osídlení. Proto koncentrace stanovených analytů byla způsobena pouze vzdušným transportem a nejsou tak vysoké jak bychom očekávali. Ve vzorcích jsou opět přítomné zejména nížebromované kongenery z vyšších je zde zastoupen BDE 153.

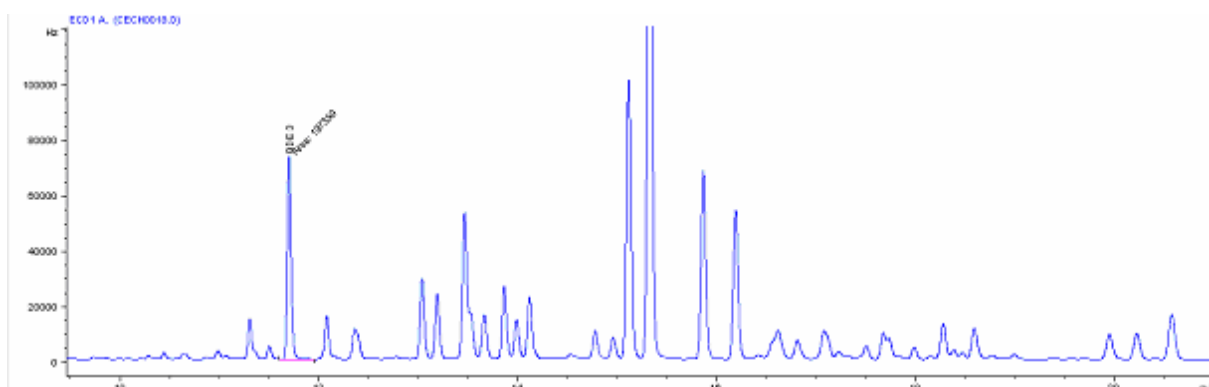
### 5.3.5 Čížová



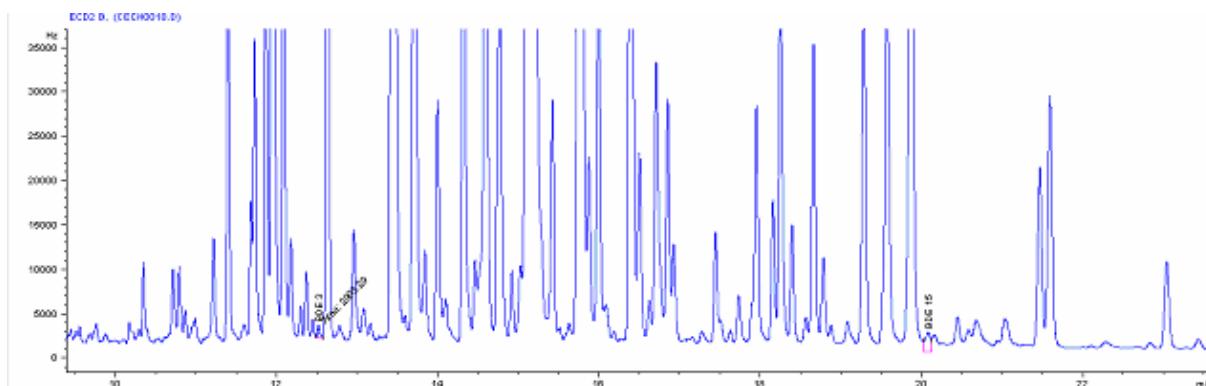
Graf 20: vzorek č. 15, smrk A



Graf 21: vzorek č. 15, smrk B



Graf 22: vzorek č. 118, borovice A



Graf 23: vzorek č. I18, borovice B

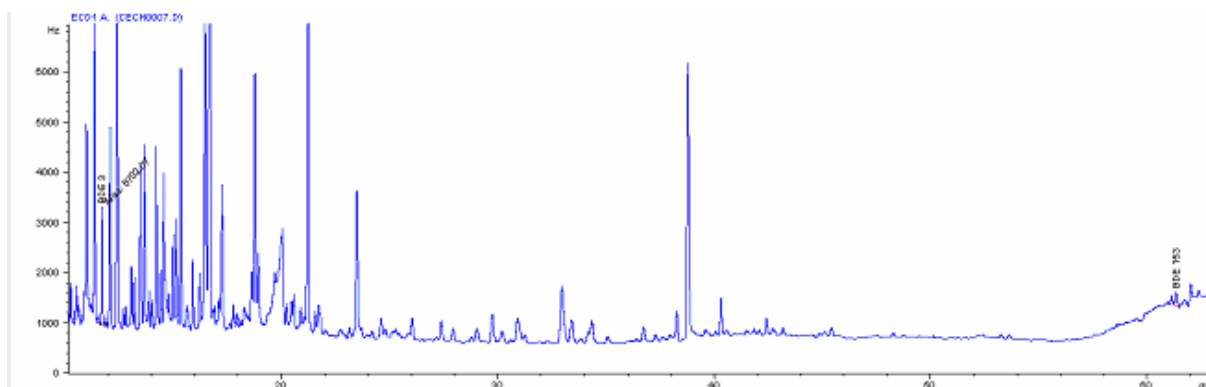
Ve vzorcích I5 a I18 z oblasti Čížová byly stanoveny tyto kongenery:

Tabulka 11: výsledky oblasti Čížová

	smrk (I5)		borovice (I18)	
kongenery	A	B	A	B
BDE 3	0,24431	-	57,5957	2,00996
BDE 15	-	0,28877	-	0,24533
BDE 28	-	0,14579	-	4,33819
BDE 47	0,24896	-	-	-
BDE 100	-	0,17226	-	-
BDE 153	0,22911	-	-	0,25479
celkem	0,72238	0,60683	57,5957	6,84827

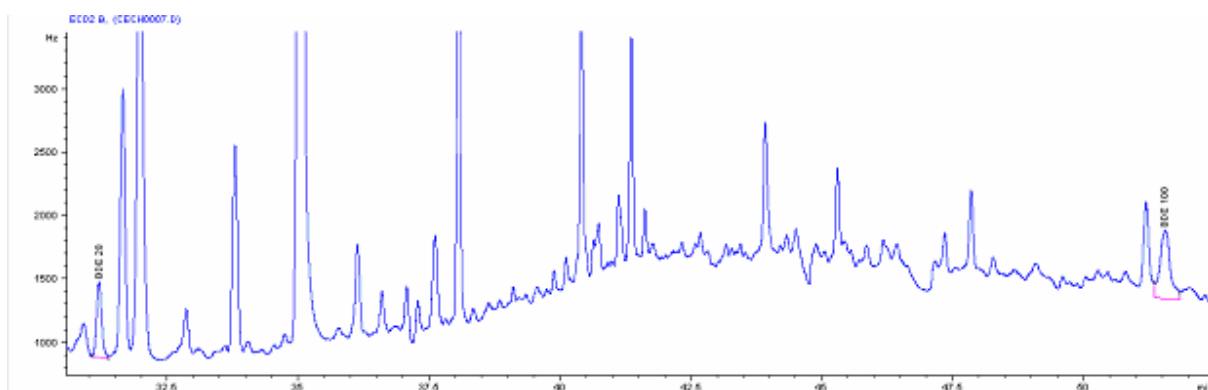
Tato oblast leží v Jižních Čechách v blízkosti města Písek, kde na jeho okraji v posledních 3 letech vyrostlo 5 velkých firem, které se zabývají výrobou plastů. Tento technologický park zasahuje téměř do vzorkované oblasti. Výsledky odpovídají předpokladům, že tato oblast je zatížena PBDE. Ve vyšších koncentracích se zde vyskytují nížebromované kongenery, zejména pak ve vzorku borovice (I18). Dále je zde zastoupení i některých výšebromovaných kongenerů jako jsou BDE 47, 100 a 153.

### 5.3.6 Brno

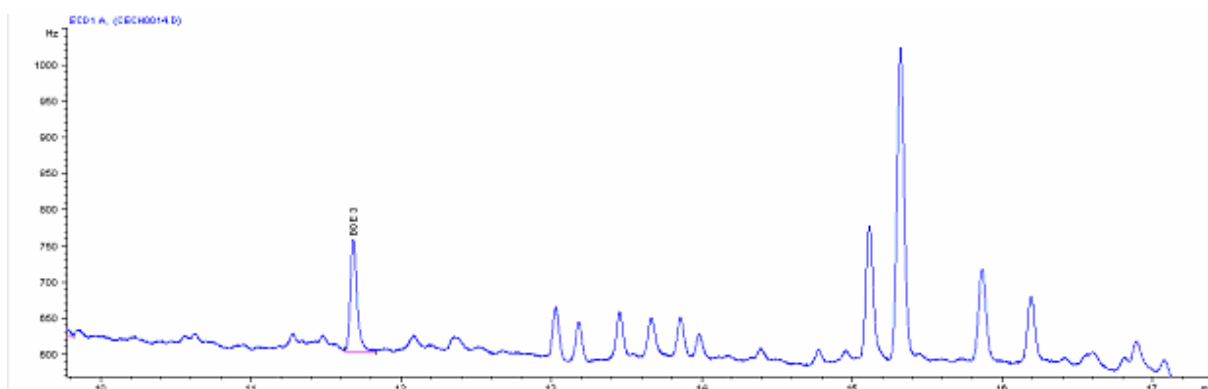


Graf 24: vzorek č. I7, smrk A

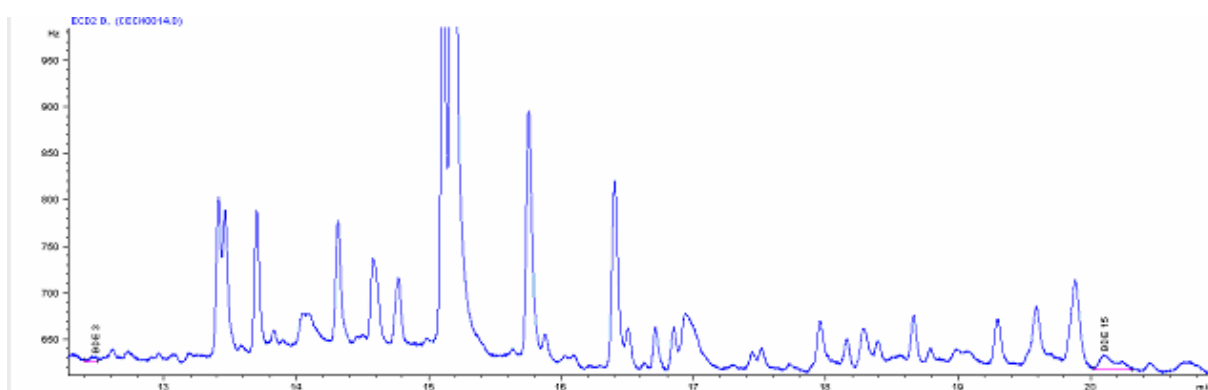




Graf 25: vzorek č. 17, smrč B



Graf 26: vzorek č. 114, borovice A



Graf 27: vzorek č. 114, borovice B

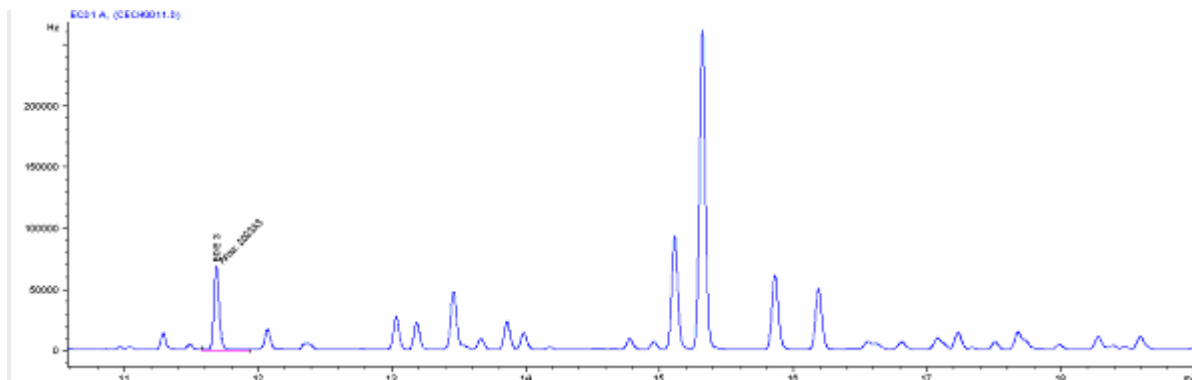
Ve vzorcích 17 a 114 z oblasti Brno byly stanoveny tyto kongenery:

Tabulka 12: výsledky oblasti Brno

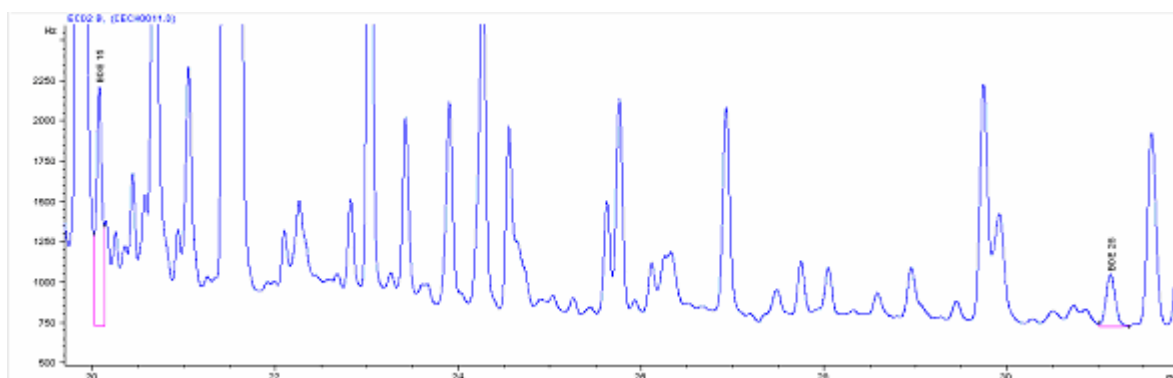
	smrč (17)		borovice (114)	
kongenery	A	B	A	B
BDE 3	2,24392	1,79251	0,23064	0,10933
BDE 15	-	0,23433	-	0,12783
BDE 28	-	0,15026	-	-
BDE 99	-	0,21496	-	-
celkem	2,24392	2,39206	0,23064	0,23715

Vzorky z této oblasti byly odebírány poblíž komunikace s velmi frekventovanou dopravou. Byly detekovány nížebromované kongenery zejména BDE 3, z výšebromovaných je zastoupen pouze BDE 99 v malé koncentraci.

### 5.3.7 Dvůr Králové nad Labem



Graf 28: vzorek č. I11, borovice A



Graf 29: vzorek č. I11, borovice B

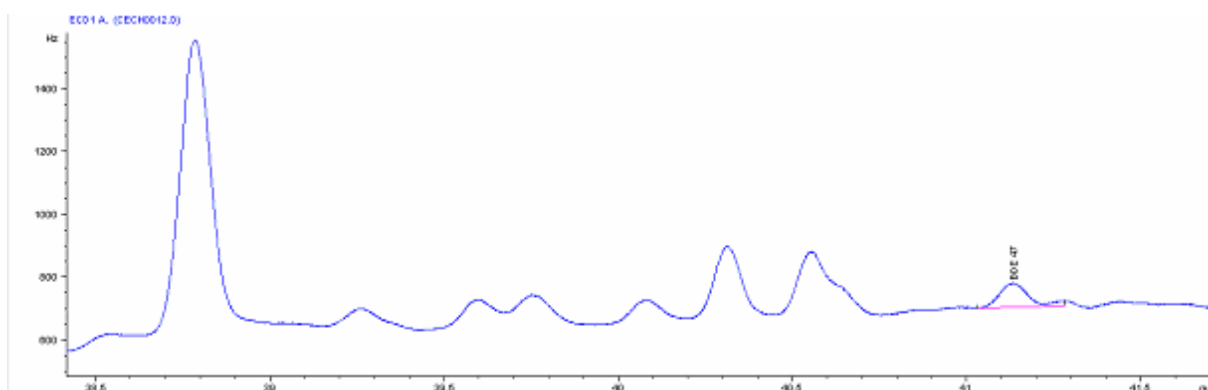
Ve vzorku I11 z oblasti Dvůr Králové n/L byly stanoveny tyto kongenery:

Tabulka 13: výsledky oblasti Dvůr Králové n/L

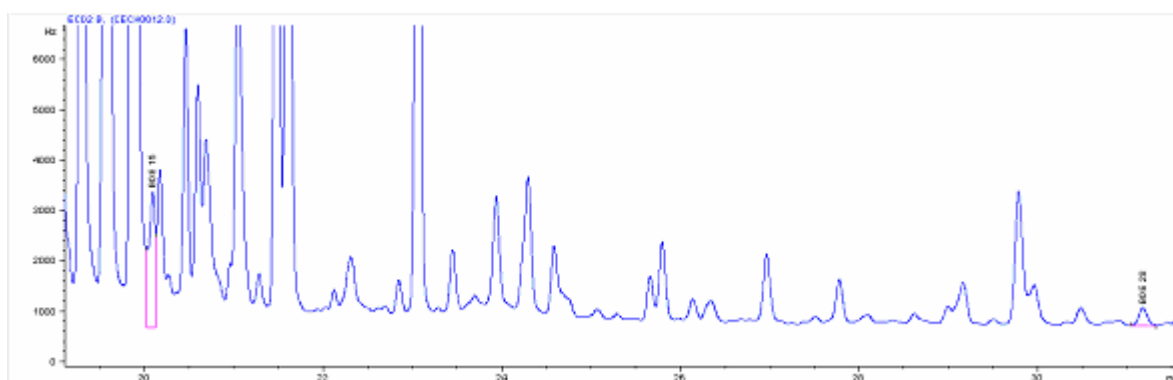
	smrk (I11)	
kongenery	A	B
BDE 3	54,3046	1,58035
BDE 15	-	0,20819
BDE 28	-	0,14442
celkem	54,3046	1,93295

Výsledky z této lokality jsou ovlivněny přítomností velkých firem vyrábějící plasty, bazény a automobilové díly. Ve všech těchto produktech jsou obsaženy PBDE a to se odráží na koncentraci detekovaných kongenerů. Vysoká je koncentrace především BDE 3. Nebyly zjištěny žádné formy s vyšším obsahem bromu.

### 5.3.8 Osíčany-Koválovice



Graf 30: vzorek č. I12, borovice A



Graf 31: vzorek č. I12, borovice B

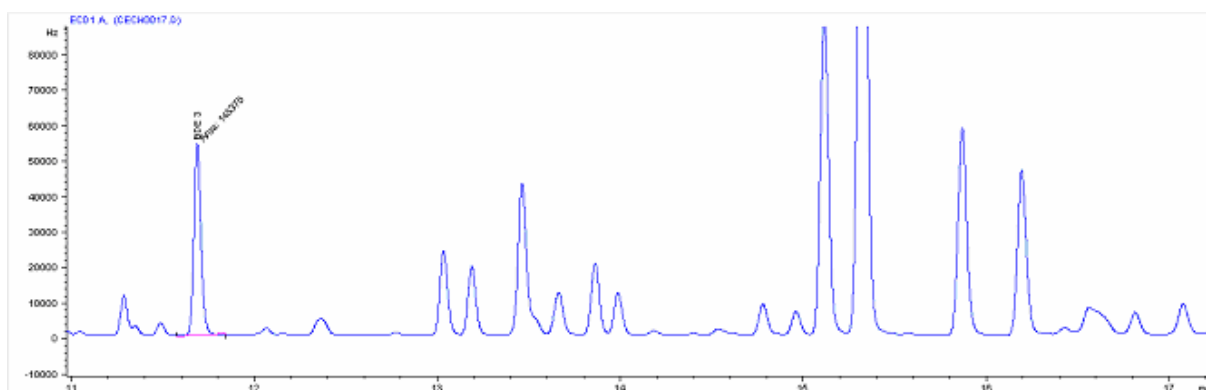
Ve vzorku I12 z oblasti Osíčany-Koválovice byly stanoveny tyto kongenery:

Tabulka 14: výsledky oblasti Osíčany-Koválovice

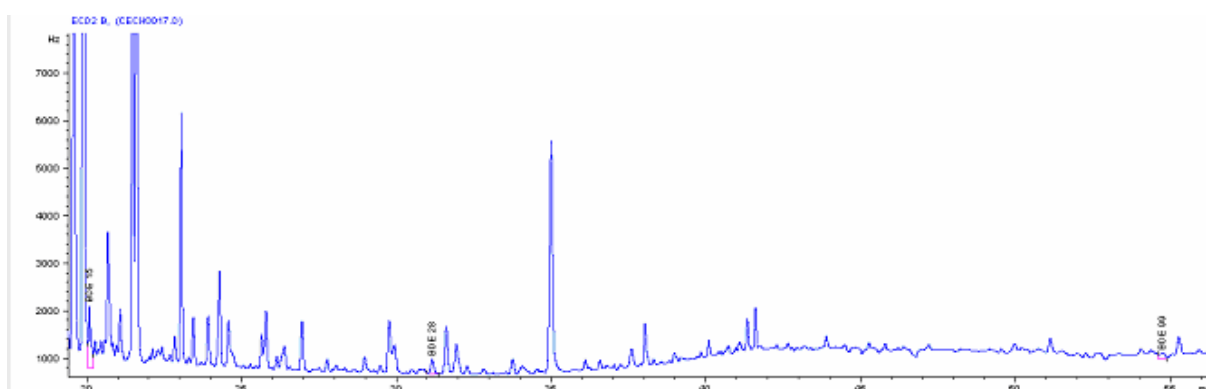
kongenery	smrk (I12)	
	A	B
BDE 15	-	0,16336
BDE 28	-	0,14463
BDE 47	0,24725	-
BDE 154	-	0,22795
celkem	0,24725	0,53595

V této lokalitě se nevyskytují žádné velké zdroje znečištění. Primárním zdrojem jsou domácnosti, které stále využívají spalovací kotle. Byly detekovány výšebromované kongenery ve větších koncentracích než nížebromované. Důvodem výskytu BDE 47 a BDE 154 je zřejmě čerstvé znečištění a proto ještě nedošlo k jejich degradaci.

### 5.3.9 Lelekovice



Graf 32: vzorek č. I17, borovice A



Graf 33: vzorek č. I17, borovice B

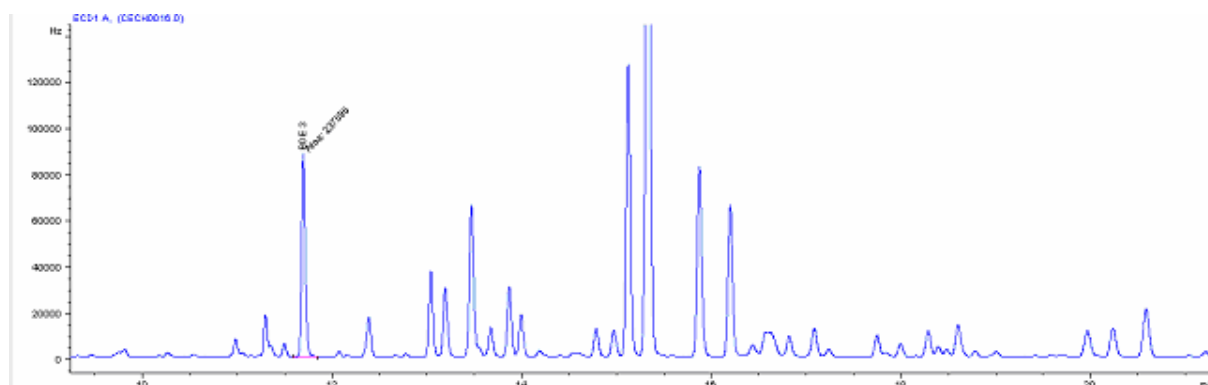
Ve vzorku I7 z oblasti Lelekovice byly stanoveny tyto kongenery:

Tabulka 15: výsledky oblasti Lelekovice

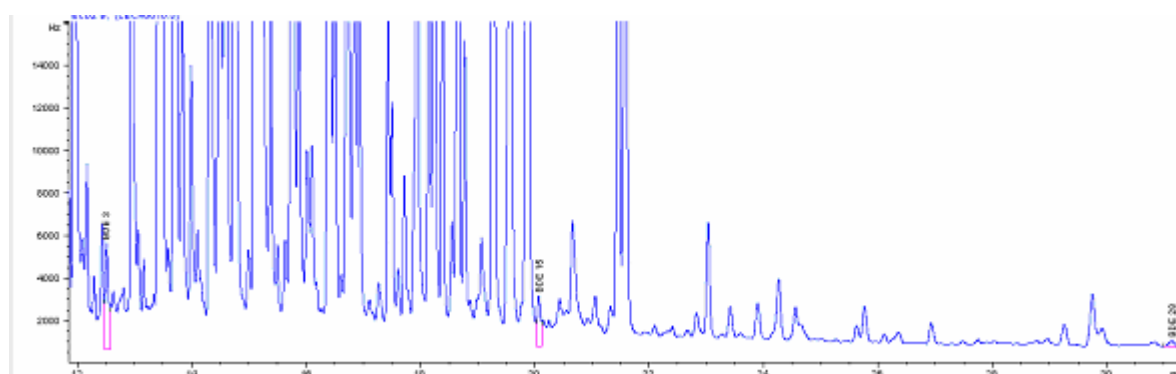
kongenery	smrk (I7)	
	A	B
BDE 3	43,2035	-
BDE 15	-	0,21823
BDE 28	-	0,14401
BDE 99	-	0,19631
celkem	43,2035	0,55856

Tento vzorek byl odebrán v Lelekovicích na Babím Lomu, kde se v bezprostřední blízkosti nevyskytuje žádný zdroj kontaminace. Toto místo je nejvyšším bodem v okolí a kontaminanty sem byly pravděpodobně dopraveny vzdušným transportem od Brna, kde se nachází Lachema s.r.o., právě v blízkosti Lelekovic. Ve vyšších koncentracích se zde vyskytuje kongener BDE 3, z výšebromovaných je to pak BDE 99, jehož koncentrace je z detekovaných kongenerů nejmenší.

### 5.3.10 Mělník



Graf 34: vzorek č. I16, borovice A



Graf 35: vzorek č. I16, borovice B

Ve vzorku I16 z oblasti Mělník byly stanoveny tyto kongenery:

Tabulka 16: výsledky oblasti Mělník

	borovice (I16)	
kongenery	A	B
BDE 3	71,924	3,88727
BDE 15	-	0,2584
BDE 28	-	0,14322
celkem	71,924	4,28889

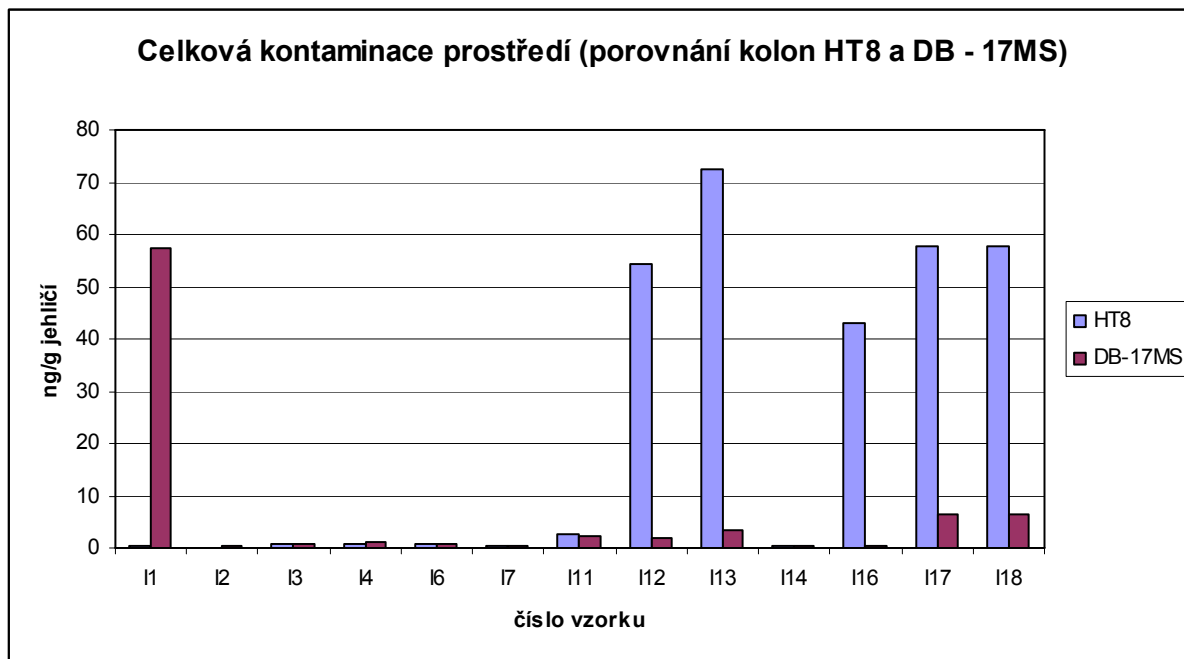
V této lokalitě je rozvinutý automobilový průmysl (výroba náhradních dílů), je tedy možné, že kontaminace pochází právě z tohoto zdroje, dále pak z domácností. Zastoupeny jsou zde nížebromované kongenery zejména pak BDE 3.

Vzorky číslo I5, I8, I9, I10, I15, I19, I20 nebyly vyhodnoceny. Na chromatogramu se neobjevily píky, které by odpovídaly stanovovaným kongenerům.

Byla proměřena i druhá sada vzorků, ze kterých byl analyt získáván sonikací. Nastavenými podmínkami nedošlo k izolaci analytů a tato metoda byla pro jejich získání naprosto nevhodná. Chromatogram neobsahoval píky odpovídající stanovovaným kongenerům, které by bylo možno integrovat.

#### 5.4 Vyhodnocení nejvíce kontaminované oblasti

Použitím dvou kolon v plynové chromatografii byly získány i dva druhy výsledků od každého vzorku. Z obou naměřených výsledků bylo stanoveno, že nejvíce kontaminované prostředí PBDE je Lázně Toušeň. Tato lokalita leží kousek od Prahy, kde je výskyt PBDE díky průmyslu, dopravě a spalovnám daleko vyšší než v ostatních vybraných lokalitách. PBDE byly pravděpodobně transportovány vzduchem. Charakter krajiny vzdušný transport výrazně podpořil.



Graf 36: porovnání koncentrací PBDE v jednotlivých lokalitách

## 6. ZÁVĚR

- Předkládaná bakalářská práce se zabývá stanovením polybromovaných difenyl etherů ve vzorcích jehličí, které byly odebírány v různých lokalitách. Cílem tedy bylo posoudit stav zatížení jednotlivých lokalit vybranými kongenery polybromovaných difenyl etherů.
- Používanou analytickou metodou byla plynová chromatografie ve dvoukolonovém uspořádání a proto jsou uváděny vždy dva výsledky u každého.
- Byly vybrány tyto kongenery : BDE 3, 15, 28, 47, 99, 100, 118, 153, 154, 183. Nejvíce se ve vzorcích vyskytoval BDE 3. Důležitou vlastností polybromovaných difenyl etherů je citlivost na světlo a teplotu. Při jiných podmínkách, než při jakých jsou PBDE stabilní dochází k rozkladu výšebromovaných kongenerů. V přírodě dochází k rozkladu těchto kongenerů a v důsledku toho se vyskytuje ve vzorcích převážně kongener BDE 3. Kongener BDE 118 a BDE 183 nebyl v jehličí vůbec detekován.
- Nejvíce zatíženou lokalitou byly vyhodnoceny Lázně Toušeň, kde byla celková koncentrace stanovena na 57,3 ng/g jehličí a 72,6 ng/g jehličí.
- Byly porovnávány dvě extrakční techniky. Vyluhování a sonikace, přičemž sonikace byla vyhodnocena jako metoda nepoužitelná pro izolaci polybromovaných difenyl etherů z jehličí (nebyla detekována žádná množství).
- Dalším cílem bylo posoudit vhodnost výběru vzorkované matrice. Vybrané bioindikátory (jehličí borovice a smrku), nejsou vhodnými ukazateli kontaminace vzorkovaného prostředí. V těchto matricích se polybromované difenyl ethery neukládají. Vhodnými matricemi pro kumulaci těchto látek jsou říční sedimenty a kaly z čistíren odpadních vod, odkud se uvolňují do potravního řetězce.
- Sledované matrice byly vyhodnoceny jako nepříliš vhodné pro monitoring kumulace polybromovaných difenyl etherů. Tyto výsledky jsou však pozitivní v tom, že na ně lze navázat a pokračovat ve sledování těchto polutantů v jiných matricích. Bylo by zajímavé pokračovat v těchto měřeních u následné diplomové práce, která by mohla vhodně rozšířit dosavadní poznatky.

## 7. POUŽITÁ LITERATURA

- [1] Ministerstvo životního prostředí ČR ve spolupráci se s.p. Terplan a s použitím materiálů Ekologické sekce Československé biologické společnosti při ČSAV, *Životní prostředí České republiky*,
- [2] Uhlířová, H. a kol., *Symptomy poškození lesních dřevin, Příručka usnadnění rozlišování příčin poškození*. vyd. Ministerstvo zemědělství ČR v Agrospoji, 1996, ISBN 80-7084-137-0.
- [3] [http://cs.wikipedia.org/wiki/Bioindik%C3%A1tor#Rostlinn.C3%A9\\_bioindik.C3%A1tory](http://cs.wikipedia.org/wiki/Bioindik%C3%A1tor#Rostlinn.C3%A9_bioindik.C3%A1tory), staženo dne 13.4 2008
- [4] DE WIT, Cynthia A. An overview of brominated flame retardants in the environment. *Chemosphere*. 2002, no. 46, s. 583-624. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [5] <http://www.env.cz/zzp05/c2.htm>, staženo dne 13.4 2008
- [6] ZHAO, Ya-Ying, TAO, Fu-Ming, ZENG, Eddy Y. Theoretical study on the chemical properties of polybrominated diphenyl ethers. *Chemosphere*. 2008, no. 70, s. 901-907. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [7] LUO, Qian, WONG, Minghung, CAI, Zongwei. Determination of polybrominated diphenyl ethers in freshwater fishes from a river polluted by e-wastes. *Talanta*. 2007, no. 72, s. 1644-1649. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [8] ELJARRAT, Ethel, et al. Occurrence of polybrominated diphenylethers, polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and biphenyls in coastal sediments from Spain : Decabrominated diphenyl ether makes a substantial contribution to the total PBDE contamination found in Spanish coastal sediments. *Environmental Pollution*. 2005, no. 136, s. 493-501. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [9] DARNERUD, Per Ola. Toxic effect of brominated flame retardants in man and in wildlife. *Environment International*. 2003, no. 29, s. 841-853. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [10] SCHULDING J., NAALD van der, W.: *Dárek do života – nebezpečné chemikálie v pupečnickové šňůře*
- [11] ST-AMAND, Annick D, MAYER, Paul M., BLAIS, Jules M. Seasonal trends in vegetation and atmospheric concentrations of PAHs and PBDEs near sanitary landfill. *Atmospheric Environment*. 2008, no. 42, s. 2948-2958. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [12] GEVAO, Bondi, MUZAINI, Saleh, HELALEH, Murad. Occurrence and concentrations of polybrominated diphenyl ethers in sewage from three wastewater treatment plants in Kuwait. *Chemosphere*. 2008, no. 71, s. 242-247. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [13] SAKAI, S. I.; HONDA, Y; TAKATSUKY, H.; Polybrominated substances in waste electrical and electronic plastics and their behavior in the incineration plants; *Organohalogen Compounds* 52 (2001) 35-38.
- [14] SAKAI, S.I., WATANABE, J., HONDA, Y. Combustion of brominated flame retardant and behavior of its byproducts. *Chemosphere*. 2001, no. 42, s. 519-531. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [15] DIRTU, Alin C., et al. Fast analysis of decabrominated diphenyl ether using low-pressure gas chromatography-electron-capture negative ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2008, no. 1186, s. 295-301. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.



- [16] KAZDA, Radek. et al, Determination of polybrominated diphenyl ethers in human milk samples in the Czech Republic : Comparative study of negative chemical ionisation mass spectrometry and time-of-flight high-resolution mass spectrometry. *Analytical chimica acta*. 2004, no. 520, s. 237-243. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [17] DE BOER, Jacob, LAW, Robin J. Developments in the use of chromatographic techniques in marine laboratories for the determination of halogenated contaminants and polycyclic aromatic hydrocarbons . *Journal of Chromatography*. 2003, no. 1000, s. 223-251. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [18] AHMED, F.E. Analysis of pesticides and their metabolites in food and drinks. *Trends analytical chemistry : TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2001, vol. 20, no. 11, s. 649-661. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [19] ESKILSSON , Sparr Cecilia, BJÖRKLUND, Erland. Analytical-scale microwave-assisted extraction. *Journal of Chromatography*. 2000, vol. 902, no. 1, s. 227-250. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [20] WANG, Dongli, et al. Determination of polybrominated diphenyl ethers in soil and sediment from an electronic waste recycling facility . *Chemosphere*. 2005, vol. 60, no. 6, s. 810-816. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [21] ALAEE, M., et al. A gas chromatography/high-resolution mass spectrometry (GC/HMRS) method for determination of polybrominated diphenyl ethers in fish. *Chemosphere*. 2001, no. 44, s. 1489-1895. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [22] LLORCA-PORCEL, J., et al. Analysis of nine polybrominated diphenyl ethers in water samples by means of stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *Analytical chimica acta*. 2006, no. 596, s. 113-118. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [23] YAMAMOTO, H., et al. Determination of decabromdiphenyl ether in water and sediment samples by gas chromatography with electron capture detection. *J AOAC Int*. 1997, no. 80, s. 102-106. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [24] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody : Učebnice základů instrumentálních analytických metod*. 1. vyd. Ostrava : Pavel Klouda, 1996. 203 s. ISBN 80-902155-05.
- [25] HROCH, Martin. *Stanovení polybromovaných difenyl etherů ve složkách životního prostředí metodou GC-MS*. [s.l.], 2007. 48 s. Vedoucí pojednání k disertační práci Milada Vávrová.
- [26] LÁNA, Radim. *Minoritní kongenery polychlorovaných bifenyly v říčních sedimentech*. [s.l.], 2005. 64 s. , 2 mapy, fotodokumentace odběrových míst. Vedoucí diplomové práce Milada Vávrová. ISBN 23/2004/16140.

## 8. SEZNAM SYMBOLŮ A ZKRATEK

ASE	zrychlená extrakce rozpouštědlem
BFR	bromované retardéry hoření
DDT	1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorfenyl) ethan
DNA	kyselina deoxyribonukleová
ECD	detektor elektronového záchytu
EI	ionizační náraz elektronů
FMAE	otevřená mikrovlnná extrakce
GC	plynová chromatografie
GPC	gelová permeační chromatografie
HBCD	hexachlorocyklododekan
HRGC	vysokorozlišovací plynová chromatografie
HRMS	vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie
ITD	iontová past (druh scanovacího detektoru)
LD <sub>50</sub>	letální dávka (po aplikaci uhynie 50% sledované populace)
LRMS	nízkorozlišovací hmotnostní spektrometrie
MAE	mikrovlnná extrakce
MS	hmotnostní spektrometrie
NCI	negativní chemická ionizace
PBB	polybromované bifenyly
PBDE	polybromované difenyl ethery
PCB	polychlorované bifenyly
PMAE	tlaková mikrovlnná extrakce
SCAN	režim pro snímání iontů vzniklých ionizací
SFE	superkritická fluidní extrakce
SIM	režim pro snímání předem vybraných iontů
TBBPA	tetrabrombisfenol A
TOF	doba průletu (nescanovací analyzátor)